

Федеральное медико-биологическое агентство  
Федеральное государственное бюджетное учреждение  
Государственный научный центр Российской Федерации –  
ФЕДЕРАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ БИОФИЗИЧЕСКИЙ ЦЕНТР ИМЕНИ А.И. БУРНАЗЯНА

---



*На правах рукописи*

Ларенков Антон Алексеевич

**ПОЛУЧЕНИЕ ПРЕПАРАТОВ  $^{68}\text{Ga}$  ВЫСОКОЙ ХИМИЧЕСКОЙ И  
РАДИОХИМИЧЕСКОЙ ЧИСТОТЫ ДЛЯ ПОЗИТРОННО-ЭМИССИОННОЙ  
ТОМОГРАФИИ**

02.00.14 – Радиохимия

Диссертация на соискание учёной степени  
кандидата химических наук

Научный руководитель  
Кандидат химических наук  
*Кодина Галина Евгеньевна*

Москва – 2015

## Оглавление

Введение .....	5
Актуальность темы.....	5
Цель и задачи работы.....	7
Научная новизна работы .....	8
Теоретическая и практическая значимость работы.....	9
Методология и методы исследования .....	10
Положения, выносимые на защиту.....	10
Апробация результатов.....	11
Структура и объём работы .....	12
Глава 1. $^{68}\text{Ga}$ в ядерной медицине (Обзор литературных данных).....	13
1.1 Концепция радиофармацевтических препаратов (РФП).....	13
1.2 Визуализация процессов с участием РФП: позитрон-эмиссионная томография.....	14
1.2.1 Радионуклиды для ПЭТ .....	15
1.3 Генератор $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ .....	17
1.4 Радионуклиды галлия в ядерной медицине.....	21
1.5 Сольватационные, биохимические и фармакологические аспекты химии галлия .....	25
1.6 Радиофармацевтическая химия $^{68}\text{Ga}$ .....	32
1.6.1 Радиофармацевтические препараты на основе $^{68}\text{Ga}$ .....	37
1.7 Влияние металлических примесей на процесс инкорпорирования $^{68}\text{Ga}$ в молекулы БХА-конъюгированных соединений .....	41
1.8 Методы кондиционирования $^{68}\text{Ga}$ для синтеза РФП.....	47
1.9 Автоматизация процессов синтеза РФП на основе $^{68}\text{Ga}$ для повседневной медицинской практики .....	65
Выводы из обзора литературных данных.....	74
Глава 2. Методическая часть.....	76
Химикаты и реагенты .....	76

Генератор $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ .....	76
Измерение активности $^{68}\text{Ga}$ .....	77
Коэффициент распределения .....	77
Эксперименты в динамических условиях .....	77
Количественное определение металлов.....	78
Синтез РФП .....	78
Определение радиохимической чистоты РФП.....	78
Остаточные органические растворители .....	79
Стерильность и бактериальные эндотоксины .....	80
ЯМР-спектроскопия.....	80
XANES/EXAFS-спектроскопия .....	80
Глава 3. Изучение ионообменного поведения $^{68}\text{Ga}$ в статических условиях.....	82
3.1 Выбор оптимального времени контакта фаз .....	82
3.2 Ионообменное поведение $^{68}\text{Ga}$ в среде соляная кислота – ацетон в статических условиях.....	83
3.3 Ионообменное поведение $^{68}\text{Ga}$ в среде соляная кислота – этанол в статических условиях.....	87
3.3.1 Исследование особенностей сольватации ионов $\text{Ga}^{3+}$ методом анализа околопороговой тонкой структуры рентгеновского спектра поглощения (XANES) и протяжённой тонкой структуры рентгеновского спектра поглощения (EXAFS) .....	96
3.3.2 Исследование особенностей сольватации ионов $\text{Ga}^{3+}$ методом ядерно-магнитного резонанса на ядрах $^{71}\text{Ga}$ .....	102
Глава 4. Изучение ионообменного поведения $^{68}\text{Ga}$ в динамических условиях .....	106
4.1 Исследование ионообменного поведения $^{68}\text{Ga}$ в среде соляная кислота – ацетон в динамических условиях.....	106
4.2 Технология кондиционирования элюата генератора $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ комбинированным катионо-анионным обменом в среде соляная кислота – ацетон .....	111

4.3 Исследование ионообменного поведения $^{68}\text{Ga}$ в среде соляная кислота – этанол в динамических условиях.....	116
4.4 Технология кондиционирования элюата генератора $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ комбинированным катионо-анионным обменом в среде соляная кислота – этанол .....	118
Глава 5. Автоматизация технологии кондиционирования элюата генератора $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ комбинированным катионо-анионным обменом в среде соляная кислота – этанол.....	123
Выводы.....	132
Благодарность .....	133
Список сокращений и условных обозначений .....	134
Список литературы.....	135
Приложение А.....	146
Приложение Б.....	149
Приложение В.....	151
Приложение Г.....	153

## Введение

### *Актуальность темы*

Преимущества методов ядерной медицины обусловили на протяжении нескольких последних десятилетий её устойчивое развитие и превращение в неотъемлемую часть клинической практики в развитых странах. Однако, усовершенствование конкурирующих методов диагностики – таких как спиральная компьютерная томография, доплерэхография и томографическое отображение ядерного магнитного резонанса (МРТ) для определения локализации и перфузии болезни – ставит перед ядерной медициной неотложную задачу сосредоточиться на своих уникальных возможностях по проведению функциональной оценки биологических процессов и, в частности, поиску и оценке внутриклеточных и внеклеточных изменений. Последние достижения в сфере направленной радионуклидной терапии также дали новый импульс для работы в этой области. Одним из главных достижений ядерной медицины за последние годы стала позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ). Сегодня ПЭТ - наиболее информативный метод радионуклидной диагностики, обеспечивающий пространственное разрешение, возможность измерения абсолютной активности в исследуемом органе, количественную и кинетическую оценку физиологических процессов. Однако для получения изотопов, используемых в этом методе ( $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{N}$ ,  $^{15}\text{O}$ ,  $^{18}\text{F}$  и др.) необходимо наличие циклотрона непосредственно в клиническом учреждении. Это значительно увеличивает стоимость эксплуатации ПЭТ-центра и, соответственно, стоимость самого обследования, делая его менее доступным для пациентов. Экономически гораздо более выгодно иметь генератор позитрон-излучающего радионуклида и набор реагентов для получения требуемого радиофармацевтического препарата (РФП) непосредственно в клинической лаборатории. Кроме того, использование генераторных радионуклидов открывает возможность осуществления высокотехнологичных процедур ПЭТ даже теми медицинскими учреждениями, в которых организация циклотронного комплекса невозможна по тем или иным причинам.

Радионуклид  $^{68}\text{Ga}$  ( $T_{1/2} = 67,71$  мин.,  $\beta^+ - 90\%$ ), получаемый из радионуклидного генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ , по совокупности ядерно-физических и химических свойств, является наиболее перспективным для синтеза РФП, применяемых в ПЭТ, и позволил открыть новое направление в химии  $\text{Me}^{\text{III}}$ -радиофармацевтических препаратов. На

сегодняшний день изучено большое количество всевозможных соединений с  $^{68}\text{Ga}$ , позволяющих визуализировать различные физиологические процессы (от  $^{68}\text{Ga}$ -цитрата и  $^{68}\text{Ga}$ -апотрансферрина для визуализации инфекционных очагов и воспалений до сложных макроциклических биоконъюгатов, меченных  $^{68}\text{Ga}$  и стабилизированных нерадиоактивными элементами). Основная часть РФП с  $^{68}\text{Ga}$  представлена аналогами соматостатина, применяемыми для визуализации нейроэндокринных опухолей в ведущих медицинских учреждениях по всему миру.

Химическая форма  $^{68}\text{Ga}$  в элюате генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ , подразумевает, теоретически, его универсальное и прямое использование в приготовлении РФП, при условии наличия подходящего хелатирующего агента. Однако, наличие конкурирующих (примесных) катионов металлов в элюате (главным образом,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ) препятствуют образованию комплексов  $^{68}\text{Ga}^{3+}$ . Проскок материнского радионуклида  $^{68}\text{Ge}$  через колонку с сорбентом имеет порядок  $10^{-3}$  % от общей активности  $^{68}\text{Ge}$  в генераторе на момент элюирования, что несёт дополнительную дозовую нагрузку на пациента. Помимо всего прочего, достаточно большой (от 5 до 10 мл) объём элюата генератора требует концентрирования активности для мечения наномолярных количеств пептидов и получения РФП с высокой молярной активностью. Таким образом, очистка и концентрирование элюата генератора  $^{68}\text{Ga}$  являются обязательными процедурами перед непосредственно реакцией мечения биоконъюгатов. Генератор  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  в настоящее время выпускается в России (ЗАО «Циклотрон», Обнинск).

На сегодняшний день несколько крупных компаний организовали серийный выпуск автоматизированных модулей синтеза РФП для генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ , соответствующих мировым стандартам качества и применяемых в ряде медицинских учреждений по всему миру. Эти модули включают в себя процесс концентрирования и очистки элюата генератора, основанный на том или ином физико-химическом методе отделения галлия от других металлов. Однако, предложенные на сегодняшний день методы кондиционирования элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  имеют ряд недостатков и ограничений, таких как использование концентрированной соляной кислоты, сложный процесс автоматизации, низкая степень очистки от ряда примесей металлов, использование органических растворителей, переходящих в кондиционированный раствор  $^{68}\text{Ga}$ , что влечёт за собой необходимость в дополнительных стадиях (таких как упаривание, разбавление, твёрдофазная экстракция), присутствие балластных веществ (таких как  $\text{NaCl}$  в высокой

концентрации) в кондиционированном растворе и невозможность применения этих методов для всего спектра прекурсоров.

### ***Цель и задачи работы***

С учётом сказанного выше, целью настоящей работы были поиск оптимальной химической системы и разработка научных основ технологии высокой очистки растворов  $^{68}\text{Ga}$ , получаемых из радионуклидного генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ , от примесей металлов и материнского радионуклида  $^{68}\text{Ge}$ , без использования концентрированных кислот и большого числа дополнительных стадий; полученный препарат должен быть получен в химической форме, максимально удобной для клинического применения в медицинских высокотехнологичных процедурах позитронно-эмиссионной томографии.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие задачи:

- Изучение сорбционного поведения микроконцентраций радионуклида  $^{68}\text{Ga}$  на ионообменных смолах в смешанных средах соляная кислота – органический растворитель в статических и динамических условиях;
- Изучение химических закономерностей и механизмов процессов ионного обмена  $^{68}\text{Ga}$  в смешанных средах методами ЯМР-, XANES-, EXAFS-спектроскопии;
- Выбор оптимальных условий высокой очистки растворов  $^{68}\text{Ga}$  от примесей металлов и материнского радионуклида  $^{68}\text{Ge}$  при одновременном концентрировании по  $^{68}\text{Ga}$  методом ионного обмена;
- Экспериментальное подтверждение пригодности полученных очищенных и сконцентрированных растворов для высокоэффективного инкорпорирования  $^{68}\text{Ga}^{3+}$  в молекулы различных прекурсоров радиофармацевтических препаратов;
- Автоматизация процесса очистки от примесей металлов и материнского радионуклида при одновременном концентрировании растворов  $^{68}\text{Ga}$ , а также синтеза радиофармацевтических препаратов на их основе.

### ***Научная новизна работы***

- ✓ Проведено систематическое изучение ионообменного поведения  $^{68}\text{Ga}$  на катионо- и анионообменных смолах в смешанных средах соляная кислота – ацетон и соляная кислота – этанол.
- ✓ Значения коэффициентов распределения  $^{68}\text{Ga}$  в статических условиях в среде соляная кислота – органический растворитель (ацетон, этанол) получены в диапазоне концентраций соляной кислоты от 0,1 до 3,0 М и объёмном содержании органического растворителя от 0 до 90 % на катионообменной смоле Dowex 50W×8 ( $\text{H}^+$ ) и анионообменной смоле Dowex 1×8 ( $\text{Cl}^-$ ). Значения коэффициентов распределения  $^{68}\text{Ga}$  в исследованных смешанных средах получены впервые для анионного обмена галлия вообще, и для катионного обмена микроконцентраций галлия ( $^{68}\text{Ga}$ ) в частности. Найдены соотношения компонентов смесей, при которых процессы сорбции-десорбции  $^{68}\text{Ga}$  на ионообменных смолах протекают наиболее эффективно, в том числе, при которых возможна одновременная десорбция с катионообменной смолы с сорбцией на анионообменной смоле при низких концентрациях соляной кислоты.
- ✓ Методами ЯМР-спектроскопии и XANES/EXAFS-спектроскопии подтверждено существование галлия в водных растворах, в том числе разбавленных растворах соляной кислоты, в форме гексааквакатиона  $[\text{Ga}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$  с октаэдрической координацией, и переход галлия в форму тетрахлоргаллат-аниона  $[\text{GaCl}_4]^-$  с ростом кислотности среды. Установлено, что применение смешивающегося с водой органического растворителя (ацетона, этанола) позволяет количественно перевести галлий из формы гексааквакатиона в форму тетрахлоргаллат-аниона уже при низких концентрациях соляной кислоты (даже 0,1 М HCl).
- ✓ На основе полученных результатов исследования ионообменного поведения  $^{68}\text{Ga}$  в смешанных средах определены оптимальные параметры и разработаны способы получения концентрированных растворов  $^{68}\text{Ga}$  высокой химической и радиохимической чистоты, защищенные патентами РФ.
- ✓ Экспериментально доказана пригодность растворов  $^{68}\text{Ga}$ , получаемых в соответствии с разработанными способами, для синтеза различных РФП надлежащего качества.



- ✓ Разработанные способы успешно имплементированы в коммерчески доступный автоматизированный модуль синтеза радиофармацевтических препаратов для применения в условиях повседневной медицинской практики в соответствии с нормами GMP.

### ***Теоретическая и практическая значимость работы***

Сведения о сорбционном поведении исследуемых радионуклидов, а также о структуре их соединений необходимы в любых направлениях работ с соответствующими химическими элементами и их различными изотопами.

В результате систематического изучения ионообменного поведения  $^{68}\text{Ga}$  на катионо- и анионообменных смолах в смешанных средах соляная кислота – ацетон и соляная кислота – этанол установлено, что применение подобных сред позволяет достигнуть эффективной очистки растворов  $^{68}\text{Ga}$  от металлических и радионуклидных примесей с одновременным концентрированием методами ионного обмена без использования концентрированных растворов кислот (соляной кислоты), токсичных веществ, дополнительных процедур в короткие сроки. Конечный очищенный раствор  $^{68}\text{Ga}$  представляет собой разбавленную соляную кислоту (0,01-0,1 М) без каких-либо органических растворителей и балластных соединений (солей металлов, например, NaCl), и может быть использован для синтеза различных РФП надлежащего качества с высокой молярной активностью.

В ходе выполнения работы составлена, утверждена и аттестована «Методика измерений радиохимической чистоты радиофармацевтических препаратов на основе  $^{68}\text{Ga}$ » МУК 4.3. 012–2012.

Разработана и испытана установка автоматизированного синтеза РФП на основе  $^{68}\text{Ga}$ . Технология получения активной фармацевтической субстанции – высокочистого и концентрированного раствора  $^{68}\text{Ga}$ , – и синтеза РФП на её основе, созданные и апробированные в процессе выполнения диссертации, были применены в доклинических исследованиях ряда новых РФП в ФБГУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России и будут использованы в дальнейшем в ходе клинических испытаний.

Имплементирование разработанных технологий в коммерчески доступный автоматизированный кассетный модуль синтеза РФП открывает возможность клинического применения препаратов  $^{68}\text{Ga}$  в медицинских учреждениях.

Разработанная технология позволяет избежать необходимости оснащения медицинского учреждения (ПЭТ-центра) циклотронным комплексом и радиохимической лабораторией для осуществления процедуры синтеза РФП, что значительно сокращает расходы и делает процедуру ПЭТ-диагностики доступной для самых разных медицинских учреждений (на базе стандартных отделений радионуклидной диагностики) и, как следствие, широкого круга больных по всей России

Результаты работы используются в учебно-педагогическом процессе в рамках цикла «Химическая технология радиофармацевтических препаратов» на кафедре Радиохимии и технологии радиофармацевтических препаратов Института последипломного профессионального образования ФБГУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России.

### ***Методология и методы исследования***

Методологической основой исследования послужили традиционные подходы к исследованию закономерностей сорбционного разделения микроколичеств элементов, а также теоретические и экспериментальные наработки по созданию радиофармпрепаратов, методам контроля их качества и системного анализа результатов.

В работе применялись следующие экспериментальные методы исследований и методики: методики проведения радиометрических измерений, инструментальные методы радиохимического и физико-химического анализа, методы биологического контроля, а также методы статистической обработки результатов. Экспериментальные исследования выполнены на сертифицированном и поверенном научном оборудовании с использованием аттестованных методик в аккредитованных лабораториях.

### ***Положения, выносимые на защиту***

- Результаты систематического исследования сорбционного поведения  $^{68}\text{Ga}$  на ионообменных смолах в смешанных средах в статических и динамических условиях.
- Результаты изучения структуры соединений галлия, образующихся в водно-этанольных растворах HCl методами ЯМР, XANES, EXAFS.
- Технологические параметры процессов высокой очистки растворов  $^{68}\text{Ga}$  (условия очистки от примесей металлов и материнского радионуклида при одновременном концентрировании растворов  $^{68}\text{Ga}$ ).

– Экспериментальное доказательство пригодности технологического процесса для синтеза радиофармацевтических препаратов надлежащего качества.

– Автоматизированная система очистки от примесей металлов и материнского радионуклида при одновременном концентрировании растворов  $^{68}\text{Ga}$ , а также синтеза радиофармацевтических препаратов на их основе.

### ***Апробация результатов***

следующих конференциях:

1. Четвертая Российская Школа по радиохимии и ядерным технологиям, Озерск, 5 – 10 сентября 2010г.;
2. Первый мировой конгресс по  $^{68}\text{Ga}$  и пептидной рецепторной радионуклидной терапии, Бад Берка (Германия), 23 – 26 июня 2011г.;
3. Седьмая международная конференция по изотопам, Москва, 4 – 8 сентября 2011г.;
4. Научно-практическая конференция «Актуальные проблемы ядерной медицины», Санкт-Петербург, 7 – 8 декабря 2011г.;
5. Пятая Российская школа-конференция по Радиохимии и Ядерным технологиям, Озёрск, 10 – 14 сентября 2012г.;
6. Международная конференция «Ядерные науки и их приложения», Самарканд (Узбекистан), 25 – 28 сентября 2012г.;
7. Седьмая Российская конференция по радиохимии «Радиохимия-2012», Димитровград, 15 – 19 октября 2012г.;
8. Ежегодный конгресс Европейской ассоциации по ядерной медицине, Милан (Италия) 27 – 31 октября 2012 г.;
9. Второй мировой конгресс по  $^{68}\text{Ga}$ , молекулярной визуализации, направленной радионуклидной терапии и дозиметрии, Чандигарх (Индия), 28 февраля – 2 марта 2013г.;
10. Ежегодный конгресс Европейской ассоциации по ядерной медицине, Лион (Франция), 19 – 23 октября 2013г.;
11. Восьмая международная конференция по изотопам, Чикаго (США), 24 – 28 августа 2014г.

По основным материалам диссертации опубликовано 15 печатных работ, в том числе 2 статьи в журналах, рекомендуемых ВАК, 2 патента и 11 тезисов докладов в сборниках российских и международных конференций.

***Структура и объём работы***

Диссертация выполнена на 154 листах печатного текста и состоит из введения; обзора литературных данных; главы, посвященной методикам эксперимента и анализа; трёх глав с основными результатами работы и их обсуждениями, а также выводов. Список цитируемой литературы насчитывает 118 позиций. Работа содержит 4 приложения, 47 таблиц и 61 рисунок.

## Глава 1. $^{68}\text{Ga}$ в ядерной медицине (Обзор литературных данных)

*“В жизни нет ничего, чего стоило бы бояться,  
есть только то, что нужно понять”*

*Мария Кюри*

### 1.1 Концепция радиофармацевтических препаратов (РФП)

Согласно терминологии отечественной и зарубежных фармакопей, **радиофармацевтический препарат** (*radiopharmaceutical*) – лекарственный препарат, который в готовой для использования форме содержит один или несколько радионуклидов (радиоактивных изотопов) [1,2]. Основой любого РФП является радионуклид. РФП диагностического назначения содержат  $\gamma$ - или  $\beta^+$ -излучающий радионуклид, являющийся информационным носителем, излучение которого, проникающее за пределы организма, регистрируется внешними детекторами. В РФП терапевтического назначения радионуклид ( $\beta^-$ - или  $\alpha$ -излучатель; радионуклид, распад которого сопровождается электронным захватом или внутренней конверсией электронов) является основным лечебным началом, позволяющим локализовать лечебную дозу излучения непосредственно в органе-мишени и, соответственно, обеспечить минимальное облучение здоровых органов и тканей.

Благодаря высокому развитию ядерной физики, на сегодняшний день в медицинской практике для визуализации процессов с участием РФП применяют целый спектр различных приёмов под одним общим названием – методы радионуклидной диагностики. Суть каждого метода сводится к определённому принципу детектирования характеристического радиоактивного излучения, его обработке и предоставлением полученных данных в удобной для исследования форме. На данный момент методы радионуклидной диагностики можно классифицировать следующим образом [3]:

- Радиометрия
  - Лабораторная
    - *in vivo*
    - *in vitro*
  - Клиническая
- Гамма-хронометрия
- Гамма-топография
  - Статическая  $\gamma$ -топография

- Динамическая  $\gamma$ -топография
- Эмиссионная компьютерная томография
  - Однофотонная эмиссионная компьютерная томография
  - Позитронная (двухфотонная) компьютерная томография.

### **1.2 Визуализация процессов с участием РФП: позитрон-эмиссионная томография**

**Позитронно-эмиссионная томография** (позитронная эмиссионная томография, *сокращ. ПЭТ*), она же **двухфотонная эмиссионная томография** — радионуклидный томографический метод исследования внутренних органов человека или животного. Сегодня ПЭТ - наиболее информативный метод радионуклидной диагностики, обеспечивающий пространственное разрешение, возможность измерения абсолютной активности в исследуемом органе, количественную оценку физиологических процессов.

Первая сцинтилляционная позитронная камера была создана в начале 60-х годов прошлого века Х. Энджером [4,5], однако весь диагностический потенциал данного метода стал возможен только благодаря работам М. Тер-Погосяна [5,6] –  
Рисунок 1.

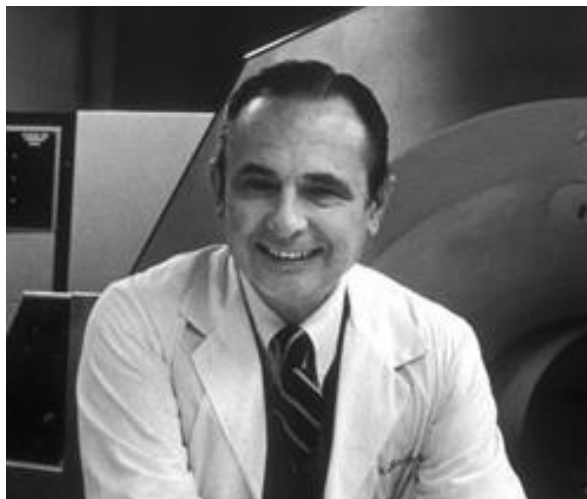


Рисунок 1 – Майкл Тер-Погосян (*M. Ter-Pogossian*)

В основе метода ПЭТ лежит явление спонтанного излучения (эмиссии) позитронов ядрами некоторых ультракороткоживущих радионуклидов (УКЖР), в которых количество протонов превышает количество нейтронов (нейтрондефицитные). Позитрон аннигилирует с образованием двух  $\gamma$ -квантов, имеющих одинаковую энергию (511 кэВ) и разлетающихся в противоположные стороны под углом, близким к  $180^\circ$  (близко коллинеарно). На орбите собственного атома аннигиляция не происходит, так как позитрон сначала должен потерять свою

кинетическую энергию. Длина свободного пробега позитрона от точки эмиссии до точки аннигиляции зависит от его энергии и плотности окружающей среды. Она может колебаться в широких пределах, например, в мышечной ткани – от 1 до 8 мм. Это, в частности, одна из причин, по которой ПЭТ имеет меньшую разрешающую способность, чем некоторые другие методы диагностики (магнитно-резонансная и компьютерная томографии). По-видимому, в современных позитронных эмиссионных томографах, имеющих пространственное разрешение от 1 до 6 мм, достигнут физический предел разрешающей способности метода [7].

### *1.2.1 Радионуклиды для ПЭТ*

Обязательным условием успешного анализа изображений при ПЭТ является точное знание нормального распределения и фармакокинетики используемого РФП. Конкретный РФП выбирается в зависимости от типа исследования. Общее количество синтезированных соединений в настоящее время достигло нескольких сотен, хотя широкое применение для исследований больных находят два-три десятка РФП. Учёные научились синтезировать высокоспецифичные биоконъюгаты, способные связываться с конкретными видами опухолей или участвующие в определённых метаболических процессах [7]. Но, независимо от большого разнообразия органических составляющих ПЭТ-трейсеров, основу их всегда составляет позитрон-излучающий радионуклид.

Выбор радионуклида для ПЭТ зависит от следующих факторов [2,7]:

- тип исследования (динамика и кинетика исследуемого процесса);
- выход распада, максимальная энергия пробега позитронов, теоретическая молярная активность;
- период полураспада радионуклида, который должен позволять произвести и применить РФП, однако, он не должен быть слишком длинным, чтобы не создавать чрезмерной дозовой нагрузки на пациента;
- механизм реакции синтеза РФП;
- доступность и стоимость радионуклида.

К позитрон-излучающим УКЖР циклотронного производства, изотопам так называемых биоэлементов, относятся нуклиды кислорода ( $^{15}\text{O}$ ), азота ( $^{13}\text{N}$ ) и углерода ( $^{11}\text{C}$ ) – Таблица 1. Перечисленные радионуклиды могут быть встроены в различные вещества путём замещения нерадиоактивного атома радиоактивным. При

этом метаболические свойства веществ не изменяются. Такой набор радионуклидов обеспечивает потенциальную возможность для мечения практически любых биологически активных молекул. Помимо биоэлементов используются и другие радионуклиды циклотронного производства – фтор ( $^{18}\text{F}$ ) и йод ( $^{124}\text{I}$ ) [8].

Таблица 1 – Ядерно-физические характеристики основных циклотронных ПЭТ-радионуклидов

<i>РН</i>	<i>T<sub>1/2</sub>, мин.</i>	<i>Тип распада</i>	<i>Основная ядерная реакция получения</i>	<i>Макс. энергия β<sup>+</sup>, МэВ</i>	<i>Макс. пробег в мышце, мм</i>	<i>Макс. мольная активность, Ки/моль</i>
<b><math>^{15}\text{O}</math></b>	2,04	β <sup>+</sup> (99,9%), Е-захват (0,1%)	$^{14}\text{N}(\text{d},\text{n})^{15}\text{O}$ $^{15}\text{N}(\text{p},\text{n})^{15}\text{O}$	1,72	8,2	$9,0 \cdot 10^{10}$
<b><math>^{13}\text{N}</math></b>	9,96	β <sup>+</sup> (99,8%), Е-захват (0,2%)	$^{16}\text{O}(\text{p},\alpha)^{13}\text{N}$	1,19	5,4	$1,89 \cdot 10^{10}$
<b><math>^{11}\text{C}</math></b>	20,4	β <sup>+</sup> (99,8%), Е-захват (0,2%)	$^{14}\text{N}(\text{p},\alpha)^{11}\text{C}$	0,96	4,1	$9,22 \cdot 10^9$
<b><math>^{18}\text{F}</math></b>	109,8	β <sup>+</sup> (96,9 %) Е-захват (3,1%)	$^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$ $^{20}\text{Ne}(\text{d},\alpha)^{18}\text{F}$	0,63	2,4	$1,71 \cdot 10^9$

$^{18}\text{F}$  не входит в число биогенных элементов, однако именно он считается «идеальным» для ПЭТ исследований благодаря относительно высокому периоду полураспада (109,8 мин) и наименьшему пробегу позитронов в ткани, обеспечивающему максимальное пространственное разрешение.

Благодаря близкой величине Ван-дер-ваальсовых радиусов, фтор замещает атом водорода или гидроксильную группу в молекуле РФП при минимальных структурных изменениях. Однако введение  $^{18}\text{F}$  в структуру молекулы существенно влияет на ее биохимическое поведение. Из-за наличия фтора в молекуле на определенном этапе метаболизма происходит его блокировка, и радиотрейсер удерживается в клетке. Этот, на первый взгляд, неблагоприятный фактор эффективно используется в ПЭТ концепции «блокированного метаболизма», позволяющей количественно определять такие важные физиологические характеристики, как регионарную скорость потребления глюкозы по накоплению ее меченого фторированного аналога, 2- $^{18}\text{F}$ -фтор-2-дезоксид-глюкозы ( $^{18}\text{F}$ ФДГ) [8].



Однако для получения таких УКЖР необходимо наличие специального высокотехнологичного оборудования – циклотронного комплекса и радиохимической лаборатории с отделом контроля качества РФП – в непосредственной близости от ПЭТ-центра. Использование биоорганических радионуклидов в ПЭТ жёстко привязывает работу центра к режиму работы циклотрона. Кроме того, использование циклотрона в значительной мере повышает стоимость организации и эксплуатации ПЭТ-центра и, соответственно, стоимость самого обследования. Экономически гораздо более выгодно иметь *генератор позитрон–излучающего радионуклида* и набор реагентов для получения требуемого радиофармацевтического препарата непосредственно в медицинском учреждении.

### 1.3 Генератор $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$

Генетическая система  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  является весьма благоприятной для использования в радионуклидном генераторе.  $^{68}\text{Ga}$  ( $T_{1/2} = 67,71$  мин) распадается путем электронного захвата (ЭЗ) (10 %) и испускания позитронов (90 %,  $E_{\beta^+} = 1900$  кэВ) Распад сопровождается испусканием аннигиляционных  $\gamma$ -квантов ( $E_{\gamma} = 511$  кэВ, выход 180 %) и  $\gamma$ -квантов с энергией  $E_{\gamma} = 1077,4$  кэВ (выход 2,93 %) – Рисунок 2.

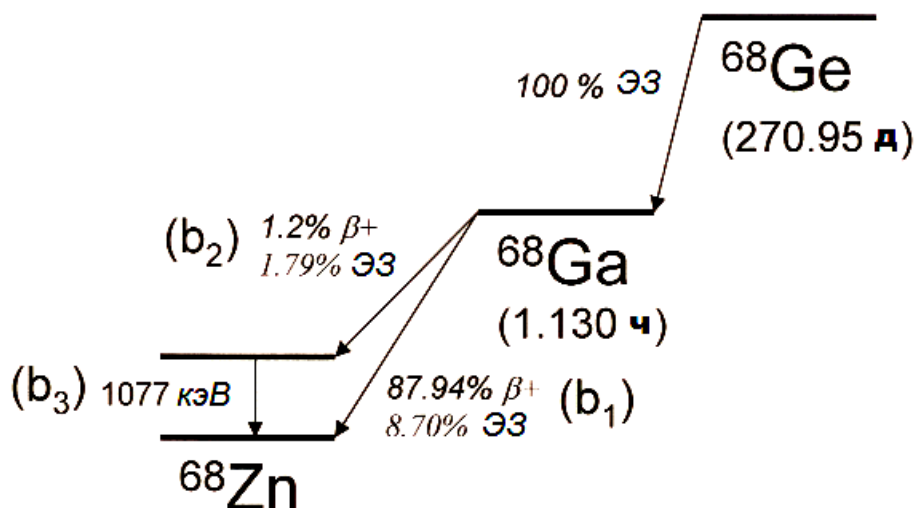


Рисунок 2 – Схема распада  $^{68}\text{Ge}$

Материнский радионуклид  $^{68}\text{Ge}$  ( $T_{1/2} = 271$  день) распадается только путем ЭЗ (100%) [9]. Получение  $^{68}\text{Ge}$  осуществляют на циклотронах по реакциям:  $^{69}\text{Ga}(p, 2n)$ ,  $^{71}\text{Ga}(p, 4n)$ ,  $^{69}\text{Ga}(d, 3n)$ ,  $^{66}\text{Zn}(^3\text{He}, n)$ ,  $^{67}\text{Zn}(^3\text{He}, 2n)$ ,  $^{68}\text{Zn}(^3\text{He}, 3n)$  [10]. Большой период полураспада материнского нуклида может обеспечить продолжительный срок службы генератора, а соотношение периодов полураспада материнского и дочернего радионуклидов позволяет элюировать  $^{68}\text{Ga}$  несколько раз в день (уже через 2-3 часа

после элюирования накопление новой порции  $^{68}\text{Ga}$  составляет > 70 % от максимального возможного) [11,12]. Время достижения равновесия составляет 14,23 часа (Таблица 2).

Таблица 2 – Накопление активности дочернего радионуклида в генераторе  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$

Время, ч	1	2	3	4	5	6	7	8	10	12	14
$^{68}\text{Ga}$ , %	45,6	70,4	83,9	91,2	95,2	97,4	98,6	99,2	99,8	99,95	99,997

Впервые возможность создания «генератора»  $^{68}\text{Ga}$  – то есть применения генетической пары  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  для получения радионуклида  $^{68}\text{Ga}$ , – была изложена в 1960 году Дж. Глисоном [13]. По сути, это не был генератор в нашем сегодняшнем представлении: автором была продемонстрирована возможность отделения  $^{68}\text{Ga}$  от  $^{68}\text{Ge}$  посредством жидкостной экстракции. Позднее, в 1961 году, М. Грином и У. Такером [14] была описана возможность отделения  $^{68}\text{Ga}$  от  $^{68}\text{Ge}$  посредством хроматографического элюирования с твёрдой фазы. В качестве твёрдофазной матрицы для материнского  $^{68}\text{Ge}$  был использован оксид алюминия, а элюирование  $^{68}\text{Ga}$  осуществляли водным раствором этилендиаминтетрауксусной (ЭДТА) кислоты. На основе данной технологии в 1964 году Юкио Яно и Хэллом Энджером [15] был создан первый генератор  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ , пригодный для медицинского применения (Рисунок 3). В качестве сорбента для  $^{68}\text{Ge}$  использовали оксид алюминия, а элюентом являлся 0,005 М водный раствор этилендиаминтетрауксусной (ЭДТА), то есть, в получаемом элюате радионуклид находился в форме комплекса  $^{68}\text{Ga}$ -ЭДТА. Выход  $^{68}\text{Ga}$  составлял ~70 %, а примесь материнского радионуклида  $^{68}\text{Ge}$  ~  $3 \cdot 10^{-4}$  %.

Впоследствии был опубликован ряд работ, где предлагались различные технологические решения по созданию  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  генератора, отображённые в ряде обзоров [12,16,17].

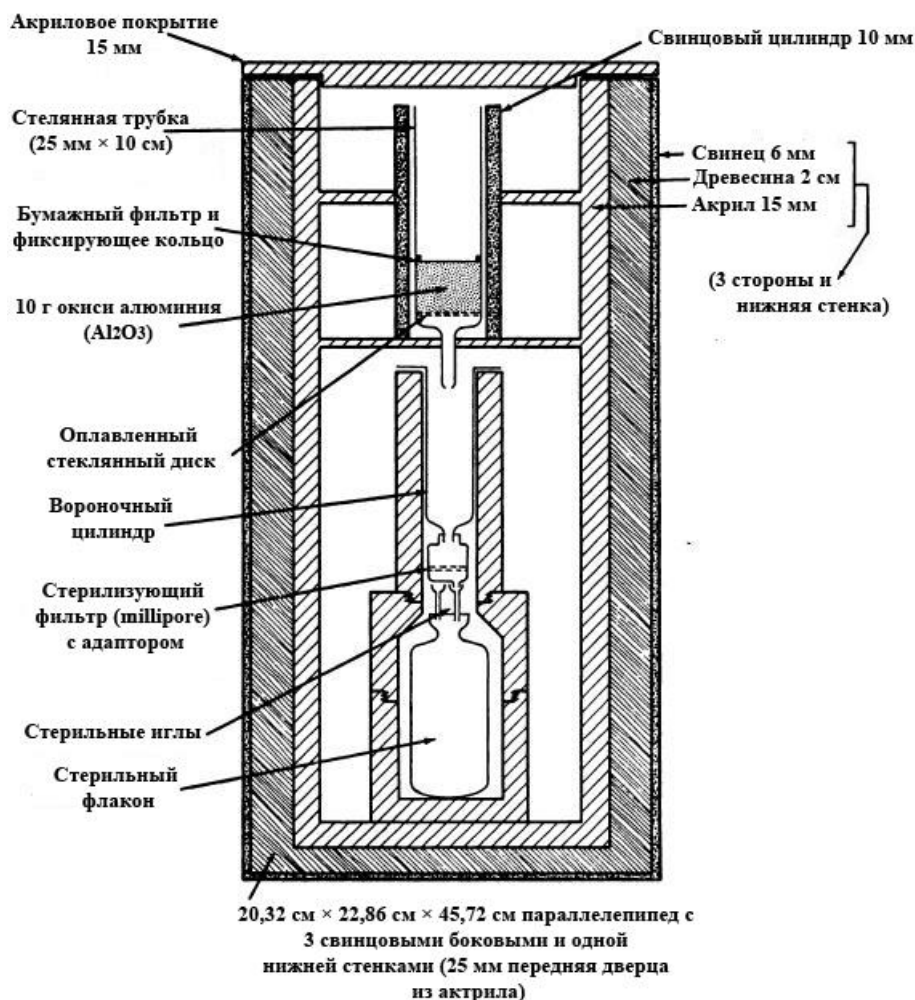


Рисунок 3 – Первый генератор  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ , использованный в медицинских целях [15]

Работы по созданию генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ , приемлемого для медицины качества, велись в Институте биофизики МЗ СССР еще с середины 60-х годов прошлого столетия. Позднее, в 80-х годах были выполнены исследования сорбции германия и галлия на большом количестве сорбентов, практически всех, которые в то время были доступны в СССР. В результате было установлено, что наиболее перспективными являются сорбенты класса «Термоксид» (синтезированы на Белоярской АЭС), а именно Термоксид-5 (позднее Термоксид-50, Т-50), представляющий собой диоксид титана, модифицированный 4–8 % диоксида циркония, с размером частиц 0,2 – 0,4 мм. В итоге был разработан генератор  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ , обеспечивающий элюирование  $^{68}\text{Ga}$  в ионном состоянии (в форме хлоридных комплексов) в 0,1 М  $\text{HCl}_{\text{aq}}$ . Впоследствии генератор был доработан совместно с ЗАО «Циклотрон» (г. Обнинск) и защищен патентом РФ № 2126271 [18]. Промышленный выпуск таких генераторов начат в 2000 г. ЗАО «Циклотрон» – Рисунок 4. Следует отметить, что подавляющее большинство опубликованных к настоящему времени

работ по синтезу и исследованию соединений, меченных  $^{68}\text{Ga}$ , выполнено с использованием российского генератора.

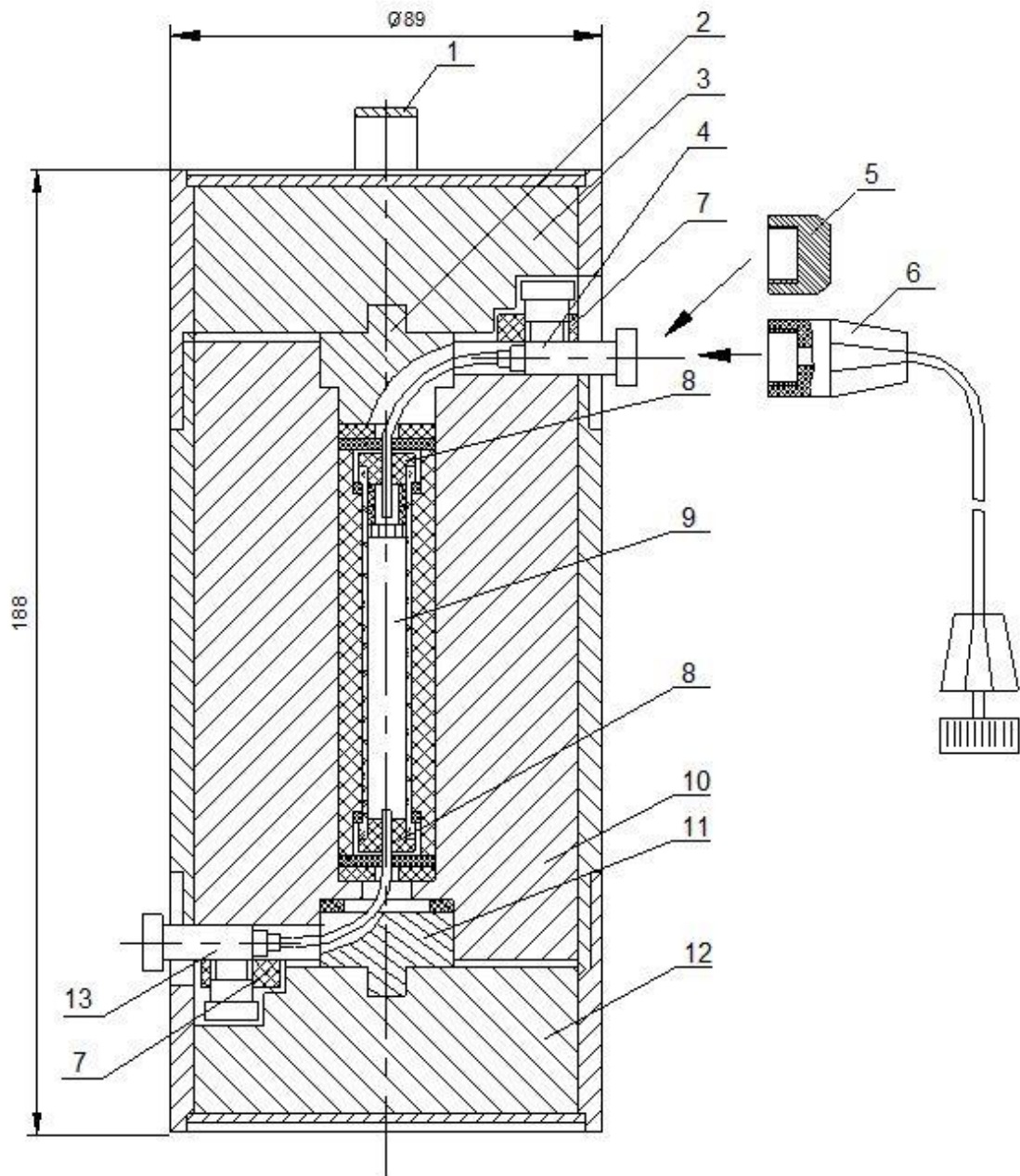


Рисунок 4 – Схема конструкции генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  ЗАО «Циклотрон» (г. Обнинск): 1 – ручка; 2 – верхняя защитная вставка (заглушка верхняя); 3 – верхняя крышка защитного контейнера; 4 – канюля катетера линии элюента; 5 – заглушка катетера; 6 – удлинительная линия; 7 – прижим (фиксатор) канюли катетера; 8 – перфорируемая пробка; 9 – генераторная колонка; 10 – корпус защитного контейнера; 11 – нижняя защитная вставка; 12 – нижняя крышка защитного контейнера; 13 – канюля катетера линии элюата

К 2012 году несколько компаний в мире осуществляют коммерческий выпуск генераторов  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  (Таблица 3).

Таблица 3 – Характеристики коммерчески доступных генераторов  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  [16,8]

Параметр	Генератор ЗАО «Циклотрон» - Обнинск	Генератор IGG, Eckert & Ziegler (Германия)	Генератор iThemba LABS (ЮАР)	Генератор ITG (Германия)
Сорбент	$\text{TiO}_2$ модиф. $\text{ZrO}_4$	$\text{TiO}_2$	$\text{SnO}_2$	Силикагель модиф. 3,4,5-тригидроксибензоатом
Элюент	0,1 М HCl	0,1 М HCl	0,6-1,0 М HCl	0,05 М HCl
Проскок $^{68}\text{Ge}$ , %	< 0,005	< 0,001	< 0,01	< 0,005
Выход $^{68}\text{Ga}$ , %: - начальный период - после 200 элюир.	> 75 ~ 60	> 65 > 65	80 нет данных	80 нет данных
Объём элюата, мл	5	5-7	2-4	5
Активность $^{68}\text{Ga}$ во фракции 1 мл, %	80	65-70	нет данных	нет данных
Гарантированное время использования	$\geq 1$ год или $\geq 400$ элюирований	1 год или 300 элюирований	нет данных	6 месяцев
Рекомендуемое время использования	Определяет потребитель (возможно до 3-х лет)	Пока проскок $^{68}\text{Ge}$ не превысит $5 \times 10^{-3}$ %	нет данных	6 месяцев

#### 1.4 Радионуклиды галлия в ядерной медицине

На сегодняшний день известно по крайней мере 34 изотопа галлия – от  $^{56}\text{Ga}$  до  $^{86}\text{Ga}$ , два из которых стабильны и встречаются в природе:  $^{69}\text{Ga}$  (60,1% природного содержания) и  $^{71}\text{Ga}$  (39,9% природного содержания) [19,20,9]. Радиоактивные изотопы галлия в природе не встречаются. Из всех известных радиоактивных изотопов галлия три –  $^{66}\text{Ga}$ ,  $^{67}\text{Ga}$  и  $^{68}\text{Ga}$ , – благодаря своим ядерно-физическим свойствам нашли применение в ядерной медицине.

$^{67}\text{Ga}$  ( $T_{1/2}=78,28$  ч) является чистым  $\gamma$ -излучателем – 93 кэВ (36%), 185 кэВ (20%), 300 кэВ (16%) и 394 кэВ (5%), – распадается электронным захватом в стабильный  $^{67}\text{Zn}$ , и используется в однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ).  $^{67}\text{Ga}$  получают на циклотроне по реакции  $^{68}\text{Zn}(p,2n)^{67}\text{Ga}$  [10]. Основной областью применения  $^{67}\text{Ga}$  является планарная ОФЭКТ-визуализация очагов

воспаления и новообразований, когда 2-5 мКи  $^{67}\text{Ga}$ -цитрата вводится внутривенно ( $^{67}\text{Ga}$ -сцинтиграфия, "Galliumscan"). Несмотря на большой срок использования  $^{67}\text{Ga}$  в повседневной клинической практике (более 40 лет) [21], количество работ, посвященных РФП на основе биоконъюгированных производных с  $^{67}\text{Ga}$ , сравнительно мало [22].

Два других изотопа –  $^{66}\text{Ga}$  ( $T_{1/2}=9,49$  ч) и  $^{68}\text{Ga}$  ( $T_{1/2}=67,71$  мин), – распадаются эмиссией позитрона и электронным захватом.

$^{66}\text{Ga}$  (ЭЗ: 43,5 %  $E_{\gamma}$ : 833 – 1039,5 кэВ;  $\beta^+$ : 56,5 %  $E_{\max} \beta^+ = 4,2$  МэВ) может быть получен на циклотроне по реакции  $^{66}\text{Zn}(p, n)^{66}\text{Ga}$ . Интерес к данному радионуклиду вызван его бóльшим периодом полураспада (чем, например, у  $^{68}\text{Ga}$ ) при возможности его применения в ПЭТ [23,24], а также в радионуклидной терапии [25].

И лишь только для получения  $^{68}\text{Ga}$  нет необходимости в циклотроне. Радионуклид получают на месте применения элюированием генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ .

Радионуклиды галлия были одними из первых (вместе с изотопами йода и фосфора), которые ядерная медицина взяла на вооружение для диагностики и лечения злокачественных новообразований [26]. Отправным моментом в истории применения радионуклидов галлия в медицине можно считать 1949 год, когда Г. Дадли с коллегами проводил исследования токсикологических характеристик стабильного галлия в различных химических формах. Они изучали распределение галлия в тканях живых организмов, используя сначала стабильный галлий, а затем  $^{72}\text{Ga}$ , полученный в ядерном реакторе в Оак Ридже [27]. Было обнаружено, что галлий имеет тенденцию накапливаться в местах повышенного метаболизма костной ткани (остеогенной активности). Дадли предположил, что  $^{72}\text{Ga}$  (и, следовательно, другие радионуклиды галлия) может быть использован для обнаружения остеогенной саркомы и других злокачественных поражений скелета, а также высказал возможность применения радионуклидов галлия в терапевтических целях. Исследования Дадли привели в 1951-1952 годах к началу клинического изучения  $^{72}\text{Ga}$  с целью использования для диагностики и лечения рака.

В ходе дальнейших исследований было признано, что  $^{72}\text{Ga}$  имеет далеко не самые лучшие ядерно-физические характеристики для ядерной медицины. Несмотря на высокие значения коэффициентов дифференциального накопления (КДН) - опухоль/здоровая ткань (10 : 1), дозовая нагрузка на пациента является чрезмерной, и гораздо эффективнее было бы использовать  $^{67}\text{Ga}$ , исследования которого начались параллельно с  $^{72}\text{Ga}$ . Однако производство  $^{67}\text{Ga}$  было дорогим в связи с необходимостью

использования циклотрона, поэтому преимущество ещё достаточно долго оставалось на стороне  $^{72}\text{Ga}$ , получаемого в реакторе. Первичные данные по сравнению  $^{67}\text{Ga}$  и  $^{72}\text{Ga}$  были крайне неутешительными: значение КДН резко упало, выведение из организма значительно увеличилось, возросло накопление в печени и почках. Единственным плюсом  $^{67}\text{Ga}$  была высокая удельная активность. Однако дальнейшие исследования показали, что при добавлении к  $^{67}\text{Ga}$  стабильного галлия, результаты оказались ничуть не уступающими результатам, полученным с  $^{72}\text{Ga}$ , сохраняя при этом преимущества  $^{67}\text{Ga}$ . В течение некоторого времени  $^{67}\text{Ga}$  с добавлением стабильного галлия успешно применялся в ядерной медицине. Однако споры между сторонниками применения того или иного радионуклида не прекратились, что в свою очередь привело к значительному снижению интереса к радионуклидам галлия практически на десять лет [26].

Новый пик роста внимания исследователей к перспективам клинического применения радионуклидов галлия относится к началу 60-х годов XX века – периоду развития работ по созданию генераторов медицинского назначения, в том числе и генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ . Позитрон-излучающий  $^{68}\text{Ga}$  был признан перспективным для ПЭТ. Здесь стоит отметить, что  $^{68}\text{Ga}$  был одним из первых радионуклидов, использованных для визуализации методом позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ), в то время, когда сам по себе термин «ПЭТ» был очень малоизвестен, задолго до первых предположений об использовании в данном методе  $^{18}\text{F}$  [28]. Одним из первых исследований по диагностическому применению  $^{68}\text{Ga}$ , является работа [29], где на биологической модели было изучено накопление  $^{68}\text{Ga}$ -цитрата в костях и других тканях организма, а также влияние изотопного носителя на биораспределение. А в ещё более ранних исследованиях [30] было уже отмечено, что в отличие от  $^{67}\text{Ga}$ -цитрата,  $^{68}\text{Ga}$ -цитрат не имеет чёткого накопления, а распределяется по всему организму в виду низкого выведения из кровяного русла и мягких тканей.

В связи со ставшим доступным в качестве источника позитрон-излучающего радионуклида генератором  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ , позволявшим получать  $^{68}\text{Ga}$  в виде комплекса с этилендиаминтетрауксусной кислотой [15], Хэлом Энджером в начале 60-х годов XX века была создана первая позитронно-сцинтилляционная камера [4], и были проведены первые исследования медицинского (диагностического) применения  $^{68}\text{Ga}$ -ЭДТА на людях [31], в частности для диагностики опухолей мозга – Рисунок 5.



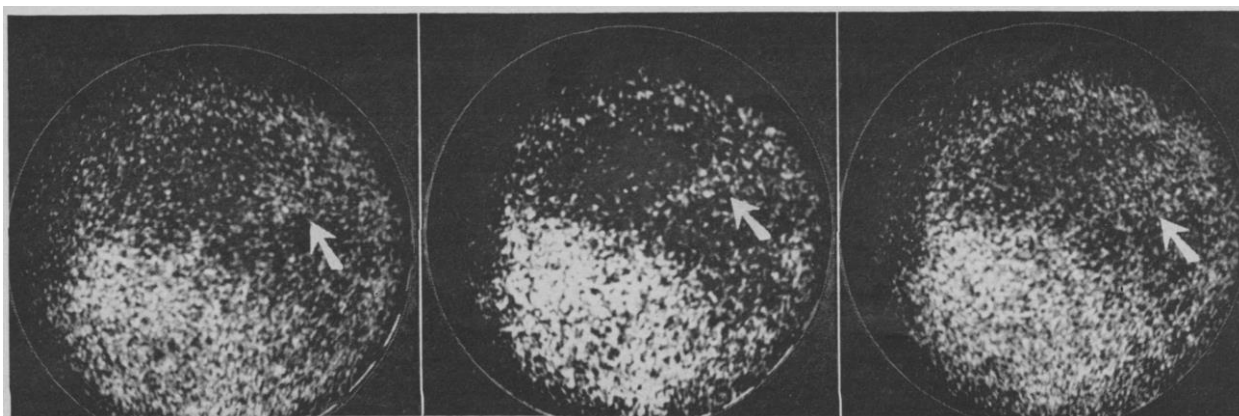


Рисунок 5 – Сцинтиграмма пациента с глиобластомой, полученная в позитронно-сцинтилляционной камере после введения  $^{68}\text{Ga}$ -ЭДТА [31]

Однако, получение  $^{68}\text{Ga}$  из генератора в виде комплекса с этилендиаминтетрауксусной кислотой ограничивало его применение в диагностических целях, не позволяло расширить спектр радиофармацевтических препаратов. Да и сами по себе технологии позитронно-эмиссионной томографии в то время были плохо развиты, что привело к резкому снижению интереса к ПЭТ вообще и к  $^{68}\text{Ga}$  в частности более чем на десятилетие, и интерес медиков вновь вернулся к  $^{67}\text{Ga}$  – наиболее приемлемому на тот момент радионуклиду для статической  $\gamma$ -томографии. До сегодняшнего дня сцинтиграфия с цитратом  $^{67}\text{Ga}$  является рутинной методикой в онкологической практике и используется для визуализации злокачественных лимфом, при оценке распространенности патологического процесса, оценке эффективности противоопухолевого лечения и выявлении рецидивов заболевания. Кроме того, в последние годы с развитием методов радионуклидной терапии  $^{67}\text{Ga}$  рассматривают в качестве возможного кандидата для создания терапевтических РФП, поскольку распад радионуклида сопровождается электронным захватом. В этом направлении достаточно перспективным считают и  $^{66}\text{Ga}$ . При этом оба радионуклида обеспечивают возможность визуализации патологического очага в процессе лечения методами ОФЭКТ ( $^{67}\text{Ga}$ ) или ПЭТ ( $^{66}\text{Ga}$ ).

Благодаря работам М. Тер-Погосяна [32], приведшим к развитию и усовершенствованию ПЭТ, а также созданию эффективного коммерчески доступного генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ , преимущества и грандиозные перспективы радионуклидной диагностики с  $^{68}\text{Ga}$  стали неоспоримыми: удобный и экономичный генераторный способ получения, хорошие ядерно-физические свойства и химические свойства в целом, высокая точность исследования.



### 1.5 Сольватационные, биохимические и фармакологические аспекты химии галлия

Элемент галлий относится к четвёртому периоду Периодической системы и является элементом третьей группы (главной подгруппы). На сегодняшний день не известно ни одного естественного физиологического процесса с участием этого элемента.

Наиболее устойчивая степень окисления галлия в водных растворах составляет +3 ввиду его  $3d^{10}$  электронной конфигурации (Рисунок 6).

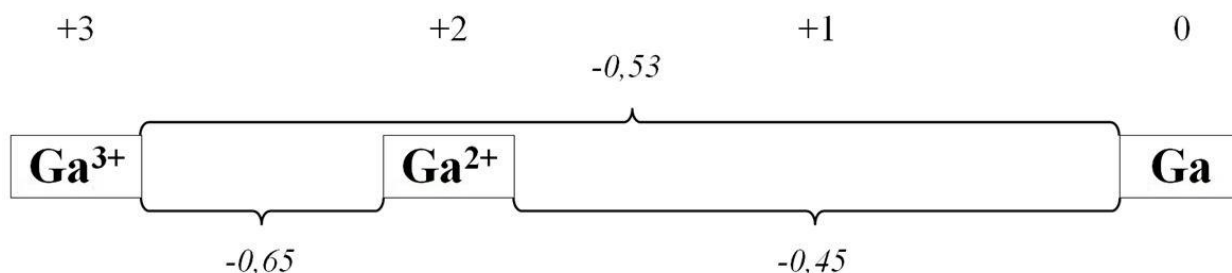
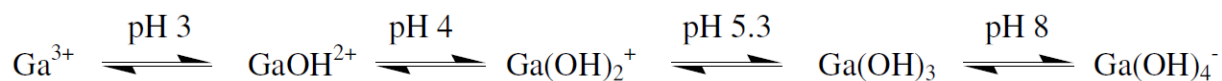


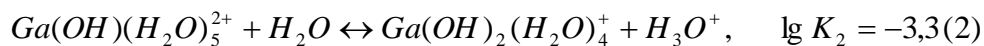
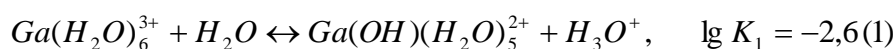
Рисунок 6 – Стандартные окислительно-восстановительные потенциалы галлия (В)

Катион  $Ga^{3+}$  благодаря высокой плотности заряда и маленькому ионному радиусу ( $0,62 \text{ \AA}$ ) может быть классифицирован как сильная кислота по Льюису (и по Пирсону). Поэтому в его комплексах и хелатах доминируют связи с соединениями, классифицируемыми как сильные неполяризуемые основания по Льюису, то есть такими, которые содержат кислород и азот (но уже с более слабым связыванием) как атомы-доноры. Наиболее часто  $Ga^{3+}$  образует гексадентатные комплексы и октаэдрическую координационную сферу [22,33]. Свободный  $Ga^{3+}$  в водном растворе октаэдрически скоординирован шестью молекулами воды – гексааквакатион  $[Ga(H_2O)_6]^{3+}$ . В свободном состоянии катион  $Ga^{3+}$  может существовать в водном растворе только при  $pH < 3$ . В интервале  $pH$  от 3 до 7  $Ga^{3+}$ , без присутствия стабилизирующих лигандов, постепенно гидролизуетсся с образованием нерастворимого аморфного гидроксида  $Ga(OH)_3$ :



При концентрациях галлия выше  $10^{-2} \text{ M}$  и при результирующем  $pH$  среды  $\sim 2$  происходит осаждение из раствора аморфной фазы, близкой по составу к  $Ga(OH)_3$  (уравнение 3.1) [34]. Оставшийся в растворе галлий гидролизуетсся дальше по уравнению 3.2. Опубликованные исследования по гидролизу галлия и его поведению в водных растворах плохо (а порой пугающе) согласуются между собой [35], поэтому следующие далее уравнения следует рассматривать как приблизительные (при этом,

количество молекул воды, вероятно координирующих ион  $[Ga(OH)_4]^-$ , достоверно неизвестно, поэтому входящие в координационную сферу молекулы воды опущены в уравнении 4):



$$\lg K_3 = -4,4$$



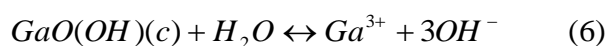
В приведённых выше уравнениях  $K_n$  – константа устойчивости при 25°C и нулевой ионной силе раствора, где  $K_n = [Ga(OH)_n][H^+]^n/[Ga(OH)_{n-1}]$ , и координационные молекулы воды опущены, то есть  $[Ga(H_2O)_6]^{3+}$  соответствует  $Ga^{3+}$  и  $H_3O^+$  соответствует  $H^+$  (рассчитано из данных [33,34]).

При нейтрализации кислого раствора галлия происходит его осаждение в форме аморфного  $Ga(OH)_3$ :



$$\log K_5 = -37$$

Со временем  $Ga(OH)_3$  переходит в более устойчивую кристаллическую структуру  $GaO(OH)$ , ещё менее растворимую в нейтральных растворах, но растворимую в щелочных средах:



$$\log K_6 = -39,1$$



$$\log K_7 = 0,33$$

При физиологических значениях pH (7,4) и температуре 25°C общая растворимость галлия в водных средах (в равновесии с кристаллическим  $GaO(OH)$ ) составляет всего ~1μM, когда весь присутствующий в растворе галлий на 98,4 % представлен формой  $[Ga(OH)_4]^-$  и на 1,6 % –  $Ga(OH)_3$ . С другой стороны, при подобных показателях среды возможно достижение концентрации  $[Ga(OH)_4]^-$  ~2,5 × 10<sup>-6</sup> M без образования нерастворимого  $Ga(OH)_3$  [34,36]. В общем и целом, соотношение моноядерных ионных форм галлия в водном растворе зависит от концентрации самого галлия, кислотности среды и температуры – Рисунок 7.

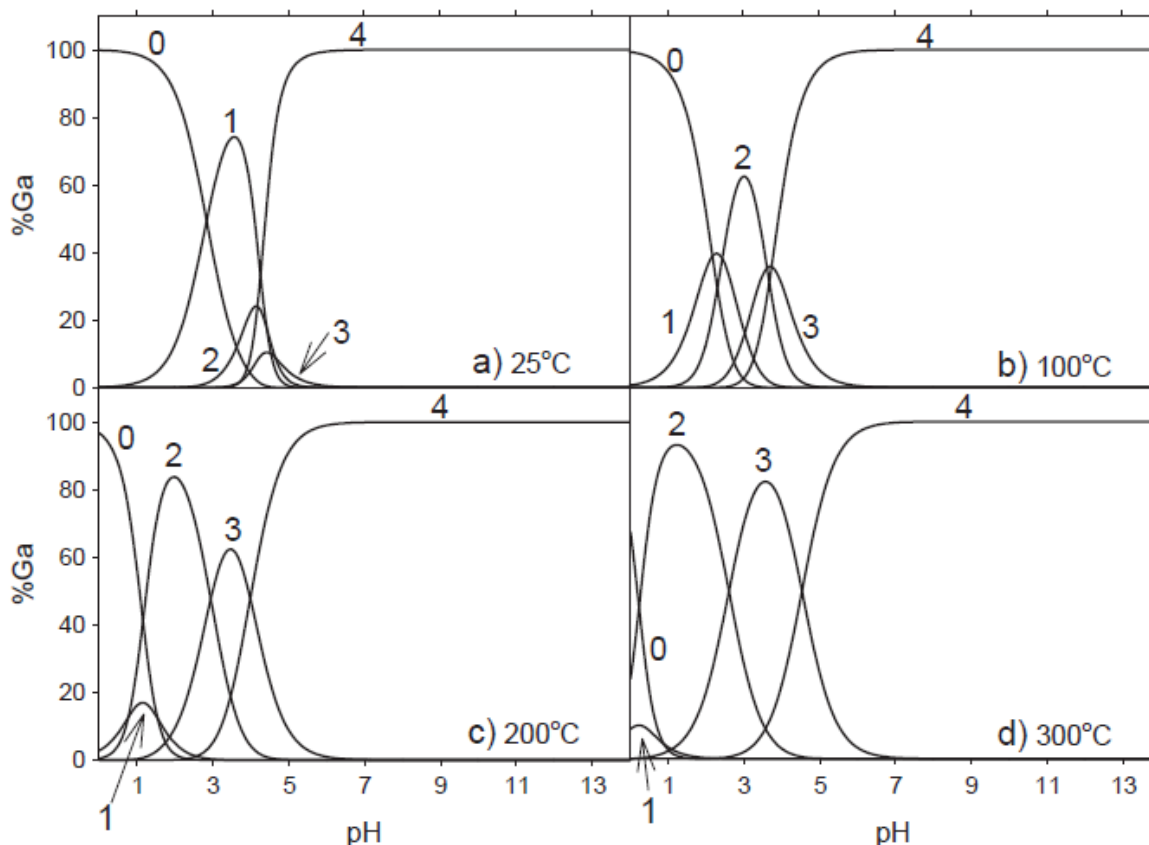


Рисунок 7 – Распределение моноядерных форм галлия в водном растворе в зависимости от pH и давления насыщенных паров воды при бесконечном разбавлении: 0 –  $\text{Ga}^{3+}$ , 1 –  $\text{GaOH}^{2+}$ ; 2 –  $\text{Ga}(\text{OH})_2^+$ ; 3 –  $\text{Ga}(\text{OH})_3$ ; 4 –  $\text{Ga}(\text{OH})_4^-$  [35]

$\text{Ga}(\text{OH})_3$  и  $\text{GaO}(\text{OH})$  демонстрируют амфотерные свойства галлия и их растворимость растёт как при повышении, так и при понижении pH. Минимум растворимости приходится на pH 5,2 (примерно  $10^{-7,2}$  М), однако даже при pH 2 общая растворимость этих форм составляет  $10^{-2}$  М, а при pH 10 ~  $10^{-3,3}$  М (что является важным фактом, препятствующим применению солей галлия в медицинских целях *per oral*).

В работе [37] был изучен гидролиз  $\text{Ga}(\text{III})$  в среде, максимально близкой по показателям к физиологической –  $37^\circ\text{C}$  и ионной силе раствора 0,15 М NaCl. Экспериментальными (потенциометрическое титрование) и расчётными методами было установлено, что при концентрации галлия 2 ммоль до pH 4,5 образуются полимерные формы  $\text{Ga}_4(\text{OH})_{11}$  и  $\text{Ga}_6(\text{OH})_{15}$ ; при pH от 4,5 до 8,4 доминирующей формой становится нейтральный гидроксид  $\text{Ga}(\text{OH})_3$  (с максимумом образования в 90% при pH 7,0); образование галлата  $\text{Ga}(\text{OH})_4^-$  начинается от pH 6 и достигает максимума при pH 10; полимерная форма  $\text{Ga}_3(\text{OH})_{11}$  начинает образовываться при pH 7, достигая максимума в 23% при pH 8,8 – Рисунок 8.

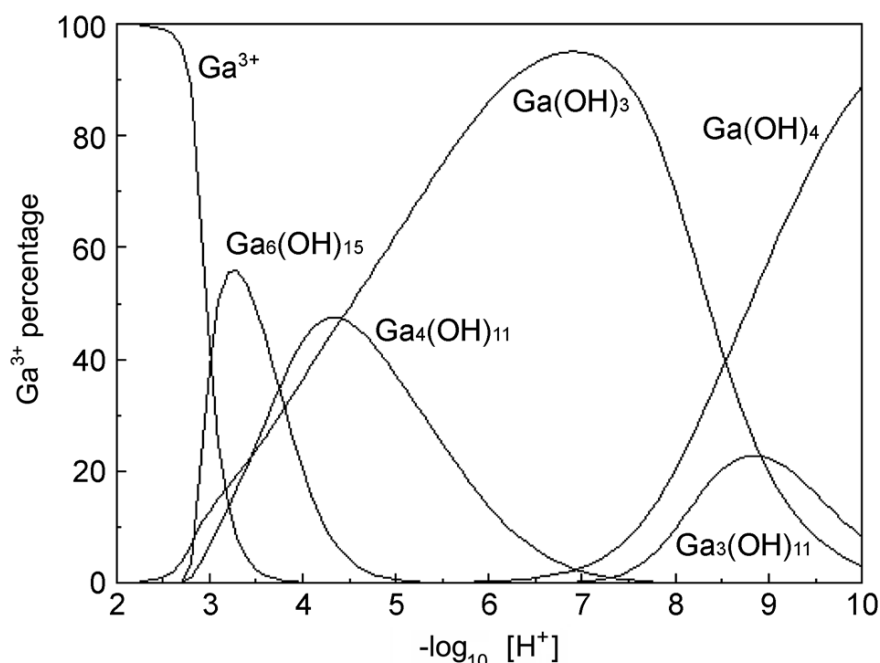


Рисунок 8 – Распределение Ga(III) между его «свободной» и гидроксильными формами в зависимости от pH при 37°C и ионной силе раствора 0,15 М NaCl [37]

Координационная химия и химия растворов галлия лишь в некоторых случаях схожа с элементами той же подгруппы - алюминием и индием, но самое большое сходство наблюдается между Ga(III) и Fe(III). Это схожее поведения отчасти объясняется схожестью ряда физико-химических параметров (Таблица 4) [33].

Таблица 4 – Некоторые физико-химические характеристики Ga(III), Fe(III), Al(III) и In(III)

Параметр	Ga(III)	Fe(III)	Al(III)	In(III)
Ионный радиус (октаэдрический), Å	0,620	0,645	0,535	0,800
Ионный радиус (тетраэдрический), Å	0,47	0,49	0,39	0,62
Потенциал ионизации (4-й потенциал ионизации), эВ	64	54,8	119,99	54
Сродство к электрону (3-й потенциал ионизации), эВ	30,71	30,65	28,45	28,03
Электроотрицательность (по Полингу), ед. П.	1,81	1,83	1,61	1,78
Энергия диссоциации связи металл-кислород, кДж·моль <sup>-1</sup>	353,5	390,4	511	320,1
Первая константа устойчивости металл-гидроксид: $K_1 = \frac{[MOH^{2-}]}{[M^{3+}] \cdot [OH^-]}, \log K_1$	11,4	11,81	9,01	10,0
Склонность к ионной связи, H <sub>A</sub>	7,69	7,22	10,50	6,30

С биологической и фармакологической точек зрения, родственное химическое поведение Ga(III) и Fe(III) особенно критично в аспекте их связывания с трансферрином плазмы крови. Трансферрин является белком плазмы крови с

молекулярным весом 79,57 кДа, имеющим два центра, каждый из которых способен связывать один ион  $\text{Fe}^{3+}$  (и, соответственно,  $\text{Ga}^{3+}$ ) совместно с карбонат или бикарбонат анионом. Общее содержание трансферрина в теле человека составляет приблизительно 240 мг/кг. Занятость трансферрина по железу составляет обычно 3,3  $\mu\text{г}/\text{мл}$ , и лишь 33% связывающих центров трансферрина (от их максимального количества) заняты ионами железа. Свободные связывающие центры трансферрина способны связать приблизительно 2,2  $\mu\text{г}/\text{мл}$   $\text{Fe}^{3+}$  или  $\sim 2,7$   $\mu\text{г}/\text{мл}$   $\text{Ga}^{3+}$ . Роль и свойства трансферрина были всесторонне освещены профессором Бриттенхеймом [38].

Ионы галлия могут связываться с двумя металл-связывающими центрами трансферрина с константами  $\log K_1=20,3$  и  $\log K_2=19,3$  при концентрации бикарбонат-аниона нормальной плазмы человека, что крайне близко к константам связывания железа с трансферрином при аналогичных показателях –  $\log K_1=22,8$  и  $\log K_2=21,5$  [36]. Для сравнения, при нейтральном pH константа связывания галлия с цитрат-анионом  $\log K=10,0$ , а с ЭДТА –  $\log K=21,7$  [22]. При этом сродство трансферрина к  $\text{Fe(III)}$  в 400 раз выше, чем к  $\text{Ga(III)}$ , но перелегандирование галлия с железом происходит чрезвычайно медленно с периодом полуобмена в 4,3 часа при 310 К (на основе ПМР-данных [39]). Принимая во внимание константы связывания  $\text{Ga(III)}$  с трансферрином и другими потенциальными лигандами, а также большой массив экспериментальных данных, распределение комплексных форм галлия в нормальной плазме крови человека при различных концентрациях металла было изучено с помощью компьютерного моделирования – Рисунок 9. Все свободные связывающие центры трансферрина заполняются  $\text{Ga(III)}$  при его общей концентрации в плазме крови 50  $\mu\text{M}$ .

При концентрациях  $\text{Ga(III)}$  в плазме выше 50  $\mu\text{M}$  (за пределом насыщения трансферрина), процент связанного с трансферрином галлия быстро снижается, и доминантной формой становится галлат  $\text{Ga(OH)}_4^-$ .

Помимо трансферрина,  $\text{Ga(III)}$  способен ещё эффективнее связываться с лактоферрином, который может «забирать»  $\text{Ga(III)}$  из комплекса с трансферрином (константа связывания  $\text{Ga(III)}$  с лактоферрином  $\log K_1=21,43$  и  $\log K_2=20,57$ ). Также велика вероятность связывания  $\text{Ga(III)}$  и другими белками плазмы крови, имеющими сродство к  $\text{Ga(III)}$  – ферритином, рибониклоти́д-редуктазой и т.п. [33].

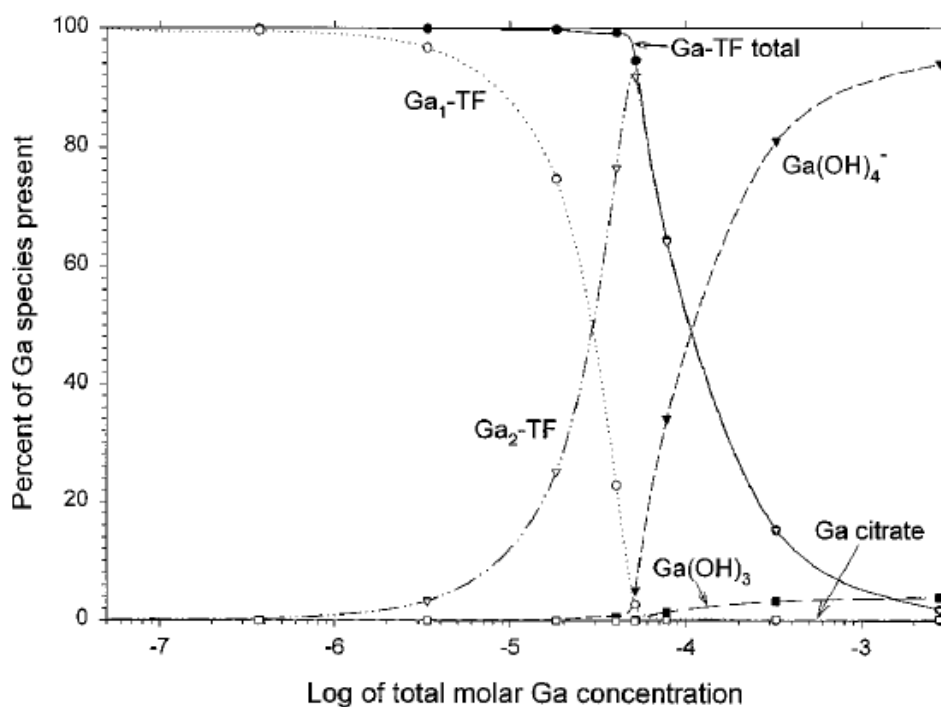


Рисунок 9 – Формы галлия, присутствующие в нормальной плазме крови человека при pH 7,4:  $\text{Ga}(\text{OH})_4^-$ ;  $\text{Ga}(\text{OH})_3$ ; Ga-цитрат( $\text{OH}^-$ ); трансферрин, связанный с одним атомом Ga ( $\text{Ga}_1\text{-TF}$ ) или с двумя –  $\text{Ga}_2\text{-TF}$  и сумма обеих форм –  $\text{Ga-TF}$  [33]

Исходя из вышеизложенного, логично ожидать высокого накопления галлия в тканях с повышенным содержанием трансферрина, рецепторов к трансферрину, лактоферрина и ферритина, при его биораспределении из кровяного русла. И на самом деле, установлено накопление галлия в пролиферирующих тканях (включая большинство опухолей), где имеется высокая плотность трансферриновых рецепторов; в грудном молоке, слёзах и слёзных железах, слизистых носоглотки и очагах воспалительных процессов, содержащих большое количество лактоферрина или богатых ферритином макрофагов; в селезёнке, печени и других областях с высокой экспрессией трансферриновых рецепторов и ферритина. Однако, ситуация на самом деле гораздо более сложная, так как галлий не копится в абсолютно всех пролиферирующих тканях, но накапливается в очагах остеогенной активности и костной резорбции, в норме не содержащих в высокой концентрации  $\text{Fe}(\text{III})$ -связывающих протеинов.

Механизм накопления галлия в опухолевых тканях (на чём основан метод ОФЭКТ с  $^{67}\text{Ga}$ ) до сих пор не изучен и является темой ряда дискуссий. Однако, в большинстве случаев аккумуляция галлия в опухолях коррелирует с плотностью трансферриновых рецепторов (в частности  $\text{CD71}$ ) [40]. При этом, остальные механизмы биораспределения галлия могут быть основаны на его присутствии в

кровоном русле в форме галлата (как было сказано выше) – небольшого реакционно-активного аниона, способного проникать через самые разнообразные биологические мембраны.

При исследованиях *in vitro*, *in vivo*, а также в ходе ряда клинических исследований были установлены самые разнообразные (зачастую неожиданные) аспекты биологической активности галлия [33,41]:

Галлий концентрируется в областях остеогенной активности и костной резорбции. В меньшей степени галлий накапливается в эндотелиальных и периостальных поверхностях;

Галлий ингибирует остеокластную костную резорбцию (при концентрациях ингибирования активности остеокластов цитотоксические эффекты не были обнаружены);

Изменяет функцию остеобластов и обладает анаболической активностью, повышает выработку коллагена типа I (основной компонент костного матрикса);

При высоких концентрациях ингибирует секрецию паратгормона (*in vitro*, 200  $\mu$ M) – прямых подтверждений пока не выявлено, но вероятно эффективность галлия при терапии болезни Паджета и остеолитизиса при множественной миеломе;

Концентрируется в очагах инфекционного и асептического воспаления;

Подавляет активацию и пролиферацию Т-лимфоцитов;

Подавляет активацию макрофагов (подавляет процесс отторжения трансплантированных органов, в частности красного костного мозга *in vivo*);

Подавляет некоторые аллергические реакции (предотвращает аллергический ответ при введении туберкулина организмам, инфицированным туберкулёзом, при внутривенном введении галлия сульфата в дозе 0,74-1,48 мг Ga/кг);

Подавляет митоз некоторых лейкоцитов и макрофагов;

При высоких концентрациях подавляет пролиферацию опухолевых клеток (подавляет синтез ДНК за счёт конкурентного связывания (вместо железа) с  $M_2$  субъединицей рибонуклеотид-редуктазы);

Ингибирует некоторые тирозин-фосфатазы (сигнальные белки, участвующие в процессах роста клеток и их онкогенной трансформации), в частности клеток лимфомы и колоректального рака;

Индукцирует апоптоз;

Ингибирует пролиферацию некоторых патогенных микроорганизмов, в частности возбудителей сифилиса и туберкулёза – при внутривенном введении галлия тартрата в дозе 15 мг/кг.

Галлий является вторым (после платины) металлом, применённым в клинической практике для терапии злокачественных новообразований.

Клинические исследования при внутривенном введении галлия нитрата в различных концентрациях (максимальная вводимая доза 750 мг/м<sup>2</sup>) показали его эффективность при химиотерапии меланомы, метастатическом колоректальном раке, раке головы и шеи, раке простаты, раке почек, яичников и молочной железы [41]. Однако все исследования выявили высокую частоту случаев нефротоксичности и цитотоксичности (в основном гематологической) галлия при эффективных для терапии концентрациях.

Чтобы подытожить всё вышеизложенное, стоит отметить, что применение методов ядерной медицины с использованием пикомолярных количеств радиоактивных изотопов галлия без носителя, позволяет в полной мере использовать все особенности его биологического поведения в диагностических целях без (!!!) проявления побочных фармакологических эффектов.

### **1.6 Радиофармацевтическая химия <sup>68</sup>Ga**

Для применения в РФП, комплексы Ga<sup>3+</sup> должны отвечать ряду основных условий, а именно: быть термодинамически устойчивыми при физиологических значениях pH и/или кинетически стабильными в течение периода, соответствующего времени медицинского обследования; как было отмечено в предыдущем разделе, для направленного применения (с использованием исключительно ядерно-физических характеристик <sup>68</sup>Ga) комплекс Ga<sup>3+</sup> не должен вступать в обмен с белком плазмы крови трансферрином, как и не должно быть иных реакций перелигандирования с соединениями внутренней среды организма.

Большинство меченых молекулярных визуализирующих агентов содержит лигандную систему, которая связывает радионуклид и имеет функциональные группы, способные конъюгировать комплекс с биомолекулой. Оптимальные условия реакции конъюгирования включают значения pH, близкие к физиологическим, короткое время реакции и минимальную необходимость очистки [42,43]. Однако выбор подходящего хелатирующего агента является далеко не единственной задачей в создании <sup>68</sup>Ga-РФП. Повышение специфичности связывания меченых соединений с поражённым органом/тканью является одной из основных задач, стоящих перед



разработчиками РФП. Одним из возможных путей решения этой задачи является использование молекул с высоким сродством к тем или иным клеточным фрагментам. К таким молекулам относятся, в первую очередь, моноклональные антитела (МКАТ), их фрагменты и аналоги. Главный недостаток МКАТ – их долгое нахождение в крови и низкая скорость достижения мишени, что значительно увеличивает дозовую нагрузку на организм пациента. Также большим недостатком МКАТ является высокая частота системных иммунологических ответов (вплоть до анафилаксии) на их введение. Меньшие по размеру молекулы пептидов, и особенно короткие пептиды, лишены этих недостатков и потому привлекают к себе все большее внимание [44,45].

Открытие в опухолевых клетках рецепторов, способных взаимодействовать с природными пептидами, а также развитие химии и технологии синтетических пептидов обусловили появление нового класса РФП – меченых пептидов [44].

Главные преимущества пептидов по сравнению с МКАТ заключаются в следующем:

- пептиды могут быть химически синтезированы (если это требуется, с одновременным встраиванием БХА для последующего мечения металлами);
- пептиды быстро накапливаются в тканях – мишенях;
- пептиды быстро выводятся из крови и неспецифических тканей, создавая оптимальное для визуализации соотношение опухоль/фон;
- пептиды могут быть стабилизированы в плазме крови, и их выведение из организма может быть модифицировано;
- пептиды редко вызывают иммунологический ответ на их введение в организм.

Обычно специфичные к рецепторам биомолекулы (за редким исключением) не способны образовывать прочные связи с металлами. Таким образом, задача получения рецепторспецифичного РФП, содержащего радионуклид-металл, сводится к модификации молекулы пептида посредством введения дополнительной хелатирующей группировки для связывания радионуклида. Для этих целей и используются так называемые бифункциональные хелатирующие агенты (БХА). В последние годы БХА различных структурных типов (Рисунок 10) с высокой селективностью и стабильностью были предложены для связывания  $Ga^{3+}$ . [6, 19, 25, 28]. Наиболее полный обзор БХА для  $^{68}Ga$  был сделан профессором Ф. Рёшем [46].

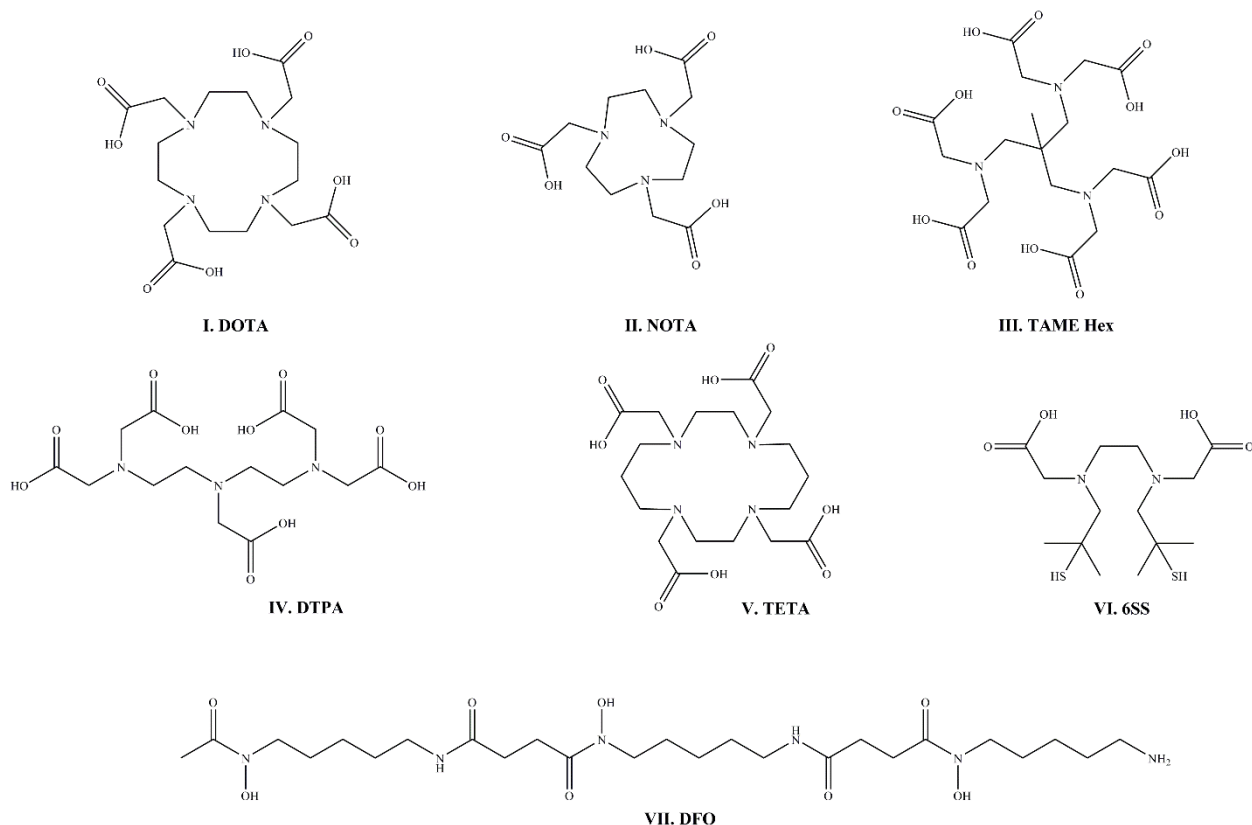


Рисунок 10 – БХА различных структурных типов

Требования к хелатирующим агентам для синтеза РФП-прекурсоров вытекают из общих требований к РФП: реакция связывания с радионуклидом должна проходить при температурах не выше 100°C (предпочтительна комнатная температура); широкий диапазон pH, в котором происходит эффективное связывание радионуклида (покрывающий диапазон от pH элюата генератора до физиологического pH); быстрая кинетика связывания (порядка 10 мин), эффективное связывание при низких количествах самого лиганда (10  $\mu\text{M}$  и менее), селективность связывания радионуклида (в присутствии химических и радионуклидных примесей), стабильность комплекса, низкое влияние на биохимическое поведение молекулы-вектора при конъюгировании с ней [46].

В первом приближении БХА можно разделить на две большие группы: БХА линейного типа (с «открытой» цепью) – ДТПА, ЭДТА, дефероксамин и др. – и циклические БХА – DOTA, NOTA, TETA и др. При этом, результаты многочисленных исследований показали, что циклические лиганды характеризуются более эффективным связыванием металлов, более высокой кинетикой комплексообразования и большей термодинамической стабильностью комплексов по сравнению с линейными БХА [47].

Наиболее известными БХА для  $^{68}\text{Ga}$  являются лиганды DOTA и NOTA (Рисунок 10 I и II соответственно), имеющие одну дополнительную карбоксильную группу на каждом атоме азота макроцикла.

Исторически DOTA (1,4,7,10-тетраазациклододекан-N,N',N'',N'''-тетрауксусная кислота) была первым полиазамакроциклом (раньше NOTA и её производных), применённым для комплексования катионов металлов в биологических целях [48]. Благодаря простому синтезу, сегодня DOTA является одним из наиболее широко используемых БХА в медицине для получения визуализирующих агентов на основе различных металлов, а также из-за достаточно высокой стабильности получаемых комплексов. Например, она используется в комплексе с гадолинием как контраст для МРТ («Дотарем») [49], а также в комплексе с  $\gamma$ -излучающими радионуклидами, такими как  $^{111}\text{In}$ , для сцинтиграфии злокачественных новообразований [50,51]. Но наибольшее внимание на данный момент уделяется комплексам DOTA с  $^{68}\text{Ga}$  для разработки новых РФП для ПЭТ [17,52].

В кристаллических структурах  $\text{Ga}(\text{DOTA-D-Phe-NH}_2)$  и  $\text{Ga}(\text{DOTA})$ ,  $\text{Ga}^{3+}$  координирован донорной группой  $\text{N}_4\text{O}_2$ , в которой катион заключен цис-псевдооктаэдрическим образом с помощью группировок лиганда DOTA, в то время как одна карбоксильная группа непротонирована и не координирует металл. Оставшиеся карбоксильные группировки также связаны с аминокислотой через амид в  $\text{Ga}(\text{DOTA-D-Phe-NH}_2)$  или вообще не связываются с металлом. Незадействованная амидная связь, следовательно, может демонстрировать большую гибкость, а свободная карбоксильная «рука» играет роль разделителя между пептидом и хелатором (подобная координационная модель может в значительной мере повышать качественные характеристики радиофармацевтических препаратов) [48,53,54].

Данные по величине константы устойчивости комплекса Ga-DOTA разнятся, в одном из последних исследований её величина оценена как  $\log K=26,05$  [54]. При этом для комплекса Ga-DOTA характерна протонная диссоциация как в кислой, так и щелочной среде, что приводит к распределению нескольких форм различной степени протонирования в зависимости от кислотности среды, тем самым ограничивая диапазон эффективного связывания галлия от 4 до 8,5 (с оптимумом в районе pH 6) – Рисунок 11.

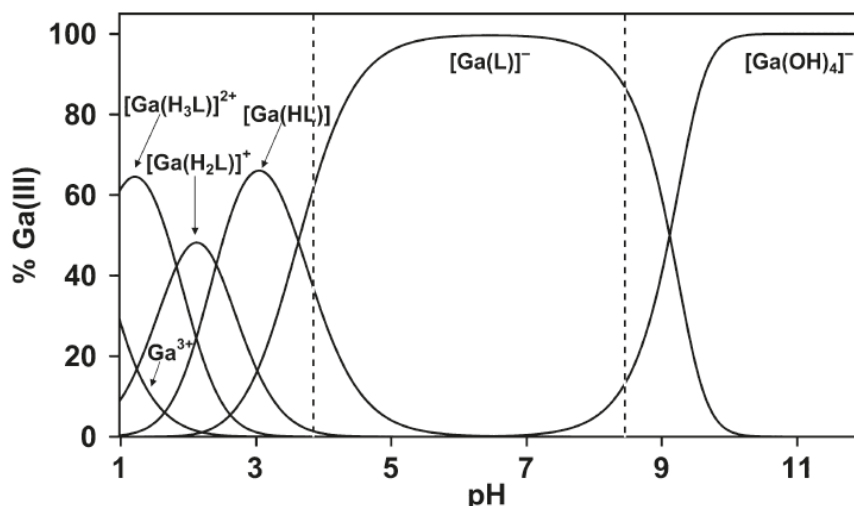


Рисунок 11 – Распределение комплексных форм в системе Ga – DOTA в зависимости от кислотности среды (эквимольное соотношение металл-лиганд, 0,004 М) [54]

Комплекс Ga-NOTA стабильнее, чем Ga-DOTA, вследствие того, что маленький катион  $Ga^{3+}$  хорошо проходит в полость девятичленного триазамакроцикла NOTA [46,55]. Переход к 12-членным циклам, в случае DOTA приводит к нежелательно широкой координационной геометрии и, следовательно, к пространственной деформации скелета лиганда и снижению стабильности. Константа устойчивости комплекса Ga-NOTA составляет  $\log K=31,0$  (для сравнения  $\log K_{Ga-DOTA}=26,05$  и  $\log K_{Ga-тетра}=19,7$  – эта наглядна иллюстрация макроциклического эффекта, чем больше становится макроцикл, тем всё менее устойчивый комплекс он образует с металлом [56]). NOTA связывает Ga(III) слабдеформированной псевдооктаэдрической донорной группировкой fac- $N_3O_3$ , как показано с помощью кристаллической структуры родственного NOTA соединения NODASA (1,4,7-триазациклононан-N-янтарная кислота-N',N''-диуксусная кислота) [57]. Бифункциональное производное NOTA с боковой карбоксильной группой для связывания также доступно. Другим бифункциональным аналогом NOTA является NODAGA – Рисунок 12 II. Оба лиганда обеспечивают более высокую эффективность меченя по сравнению с DOTA, и образуют более устойчивые комплексы галлия.

В последнее время всё большее внимание уделяют фосфорилированным аналогам NOTA – TRAP и NOPO (Рисунок 12 III и IV соответственно) [58,59]. Данные соединения проявляют исключительную селективность к Ga(III), показывая высокий процент инкорпорирования галлия даже в среде, содержащей большое количество примесей других металлов. Также данные соединения отличаются эффективным комплексообразованием уже при комнатной температуре и низких (1-10  $\mu M$ )

количества лиганда. Однако, по устойчивости образуемого комплекса с галлием, а также ширине диапазона pH, в котором происходит комплексообразование (Рисунок 13), наиболее эффективным БХА на сегодняшний день остаётся NOTA (и её производное NODAGA).

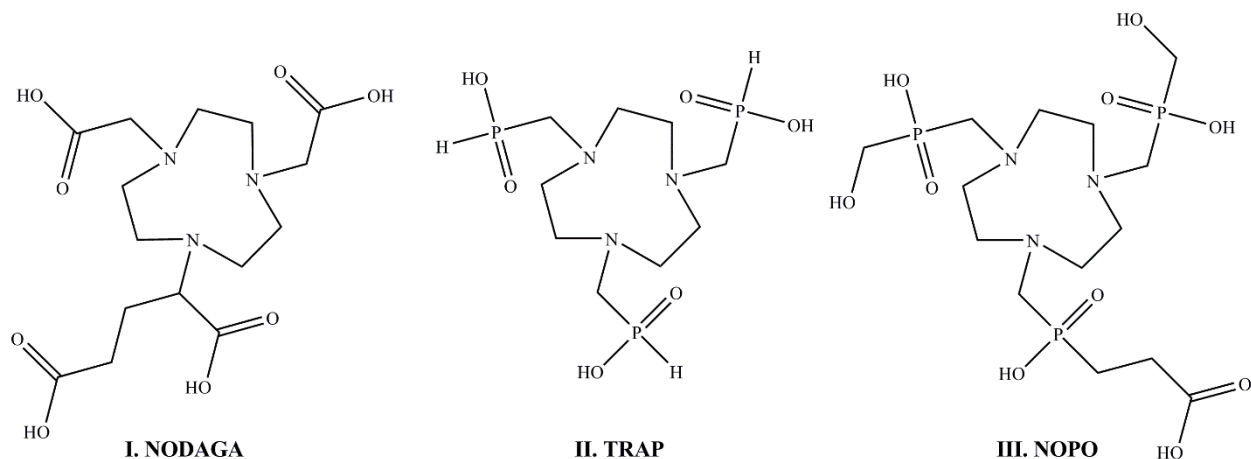


Рисунок 12 – Хелаторы на основе полиазабициклоалкан-производных, используемые для трёхвалентного галлия: 1,4,7-триазабициклононан-1-[метил(2-карбоксиитил)фосфиновая кислота]-4,7-бис[метил(2-гидроксиметил)фосфиновая кислота] – **NOPO**; 1,4,7-триазабициклононан-1,4,7-триуксусная кислота – **NOTA**; 1,4,7-триазабициклононан-1,4,7-трис[метил(2-карбоксиитил)фосфиновая кислота] – **TRAP**; (1,4,7-триазабициклононан-1,4-бис(уксусная кислота)-7-(2-глутаровая кислота) – **NODAGA**

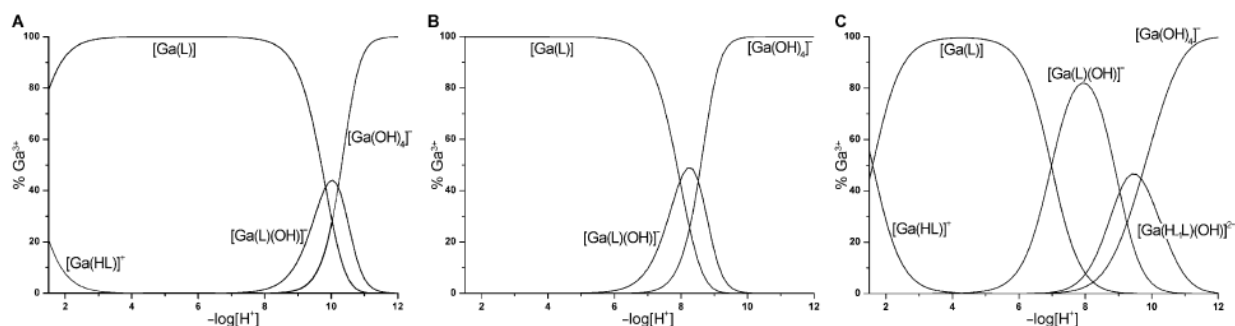


Рисунок 13 – Распределение комплексных форм в системе Ga – БХА в зависимости от кислотности среды (эквимольное соотношение металл-лиганд, 0,004 М): **A** Ga-NOTA; **B** Ga-TRAP-H; **C** Ga-TRAP-OH

Конъюгированием различных БХА с самыми разнообразными векторными соединениями получают РФП-прекурсоры, которые после инкорпорирования  $^{68}\text{Ga}$  становятся РФП различного диагностического назначения.

### 1.6.1 Радиофармацевтические препараты на основе $^{68}\text{Ga}$

Элюируемый из генератора в катионной форме  $^{68}\text{Ga}$  позволил открыть новое направление в химии  $\text{Me}^{\text{III}}$ -радиофармацевтических препаратов. Первоначально были изучены возможности применения меченных  $^{68}\text{Ga}$  уже существующих и хорошо известных веществ, применяемых в магнитно-резонансной томографии и

однофотонной эмиссионной компьютерной томографии. Внушительный успех применения меченного  $^{68}\text{Ga}$  DOTA-конъюгированного октреотида (по сравнению с  $^{111}\text{In}$ -DTPA-октреотидом – препарат «Октреоскан» для ОФЭКТ) открыл путь не только к принятию на вооружение ядерной медициной одного этого соединения для визуализации нейроэндокринных опухолей, но и для реализации огромного потенциала генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  в современной ядерной медицине в целом.

В последнее десятилетие (начиная с 2000 года) в мире наблюдается настоящий «бум» в области  $^{68}\text{Ga}$ . Всё возрастающее применение радиофармацевтических соединений  $^{68}\text{Ga}$  (как собственно для диагностики, так и для планирования дальнейшей радионуклидной терапии в концепции тераностики) привело к прогрессивному развитию в области оптимизации генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  с химической, медицинской и нормативной сторон. Разрабатываемые бифункциональные хелатирующие агенты могут быть применены при создании более специфичных соединений для адресной доставки радионуклида *in vivo*. Но, независимо от широчайших возможностей, предоставляемых использованием генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  в ядерной медицине, концепция радиофармацевтической химии  $^{68}\text{Ga}$  должна быть направлена на разработку соединений для диагностики наиболее актуальных заболеваний.

На сегодняшний день изучено большое количество всевозможных соединений с  $^{68}\text{Ga}$ , позволяющих визуализировать методом ПЭТ различные физиологические процессы (от  $^{68}\text{Ga}$ -цитрата и  $^{68}\text{Ga}$ -апотрансферрина для визуализации инфекционных очагов и воспалений до сложных макроциклических биоконъюгатов, меченных  $^{68}\text{Ga}$  и стабилизированных нерадиоактивными элементами). Однако большинство работ в направлении рецепторспецифичных РФП (в частности, с  $^{68}\text{Ga}$ ) посвящено получению и исследованию меченых синтетических аналогов природного циклического пептида соматостатина (Cс) [60].

Cс (соматотропин-релизинг-ингибирующий фактор, гормон) в организме животных и человека синтезируется в клетках гипоталамуса и внегипоталамических областей ЦНС, в поджелудочной железе, а также в желудочно-кишечном тракте. В организме Cс вначале синтезируется в виде высокомолекулярного белка-предшественника препросоматостатина, состоящего из 116 аминокислотных остатков, который в результате посттрансляционного процессинга превращается в просоматостатин (92 аминокислотных остатка). Из последнего путем специфического протеолиза образуется Cс. В организме млекопитающих Cс

существует в двух формах, которые образуются из общего предшественника - собственно Сс (Сс-14, Sst-14) и полипептида, состоящего из 28 аминокислотных остатков (т.н. Сс-28, Sst-28; в нем аминокислотная последовательность Сс соответствует фрагменту 15-28) [60].

Перерождение здоровой ткани, содержащей рецепторы Сс (pСс, sst), в раковую, сопровождается резким увеличением количества рецепторов на поверхности клетки. Эта сверхэкспрессия является основой для визуализации и терапии опухолей с использованием радионуклидов. Основоположниками данного направления являются Е. Кренинг, В. Бейкер и В. Бриман [61], изложившие его в 1989 году. Считают, что сверхэкспрессия pСс является отличительной особенностью нейроэндокринных опухолей (НЭО). Однако, исследования, проведённые Е. Кренингом, показали, что сверхэкспрессия pСс может быть обнаружена и в ряде других заболеваний [62,63].

В последние 20 лет, некоторые ПЭТ-трейсеры для визуализации НЭО получили развитие, в основном, вследствие неоднозначной роли  $^{18}\text{F}$ -ФДГ в оценке этих опухолей [64]. В действительности, высокодифференцированные НЭО характеризуются низкой скоростью метаболизма и, соответственно, низким потреблением глюкозы, делающим  $^{18}\text{F}$ -ФДГ неподходящей для оценки высокодифференцированных форм, в то время как ее роль все еще может быть весьма ценной при пролиферирующих недифференцированных опухолях или в случаях опухолей с низкой выработкой pСс (например, медуллярный рак щитовидной железы). П. Антунес с соавт. [65] сообщил о том, мечение БХА-конъюгированных пептидов  $^{68}\text{Ga}$  имеет преимущества по сравнению с другими радиоактивными изотопами металлов.

Поскольку Сс претерпевает быстрое энзиматическое расщепление в крови, и его биологический период полувыведения составляет всего несколько минут (период полураспада S-14 у человека около 1 минуты, S-28 – около 3 минут), то данную молекулу нельзя использовать для создания РФП. Поэтому большое число исследований было направлено на поиски более устойчивого аналога Сс. Путём укорачивания молекулы, при сохранении её циклической структуры и введения правовращающих изомеров аминокислот, учёными был получен октреотид, а впоследствии и его производные – Рисунок 14.

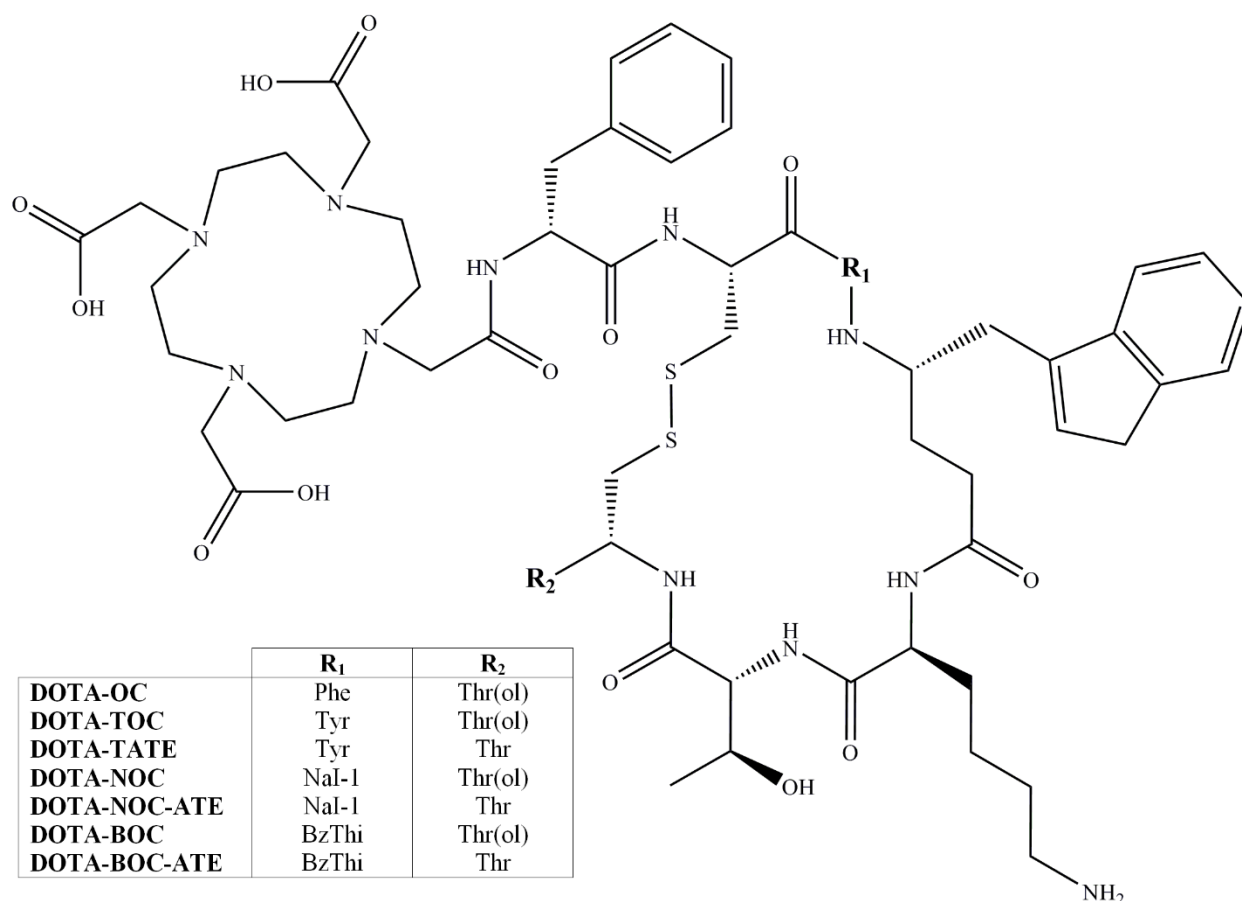


Рисунок 14 – Структурная формула DOTA-конъюгированного октреотида и его производных

На сегодняшний день существует несколько DOTA-конъюгированных аналогов Сс, успешно применяемых в повседневной медицинской практике (Рисунок 14). Структура <sup>68</sup>Ga-DOTA-пептидов может быть обобщена следующим образом: (1) – активная часть, связывающаяся с sst (ТОС, NOC, TATE), (2) – хелатор (DOTA) и (3) – изотоп (<sup>68</sup>Ga).

Наиболее значимое различие между этими соединениями состоит в разном сродстве к рецепторам sst: все могут связывать sst2 и ss5, только DOTA-NOC демонстрирует хорошее сродство к sst3. Это еще не получило прямой клинической корреляции и является предметом многих исследований с целью определения преимуществ в клиническом применении того или иного аналога Сс.

DOTA-конъюгированные аналоги Сс, меченые <sup>68</sup>Ga, занимают основную часть разработок в области радиофармацевтических соединений <sup>68</sup>Ga. Однако, в мире ведутся разработки всё новых и новых соединений, мечение которых <sup>68</sup>Ga позволит визуализировать самые разнообразные физиологические процессы.



### 1.7 Влияние металлических примесей на процесс инкорпорирования $^{68}\text{Ga}$ в молекулы БХА-конъюгированных соединений

На сегодняшний день лишь в нескольких работах представлено систематическое исследование влияния примесных катионов на реакции инкорпорирования  $^{68}\text{Ga}$  в молекулы БХА-конъюгированных соединений – прекурсоров РФП.

Так в работе [66] авторами было изучено влияние присутствия катионов  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  и  $\text{In}^{3+}$  на инкорпорирование  $^{68}\text{Ga}$  в молекулу DOTATOC. Влияние  $\text{Al}^{3+}$  и  $\text{Fe}^{3+}$  было изучено в двух сериях экспериментов с различными концентрациями металла в реакционной смеси – от 0 до 10 нмоль/мл – с превышением концентрации  $^{68}\text{Ga}$  в  $10^3 \div 10^4$  раз. Авторы отметили, что выход реакции мечения DOTATOC, в отсутствие  $\text{Fe}^{3+}$  в реакционной смеси составляющий > 95 %, снижается до 89 % при добавлении 2 нмоль  $\text{Fe}^{3+}$  и далее падает до 24 % при эквимольном соотношении  $\text{Fe}^{3+}$  и DOTATOC (Рисунок 15).

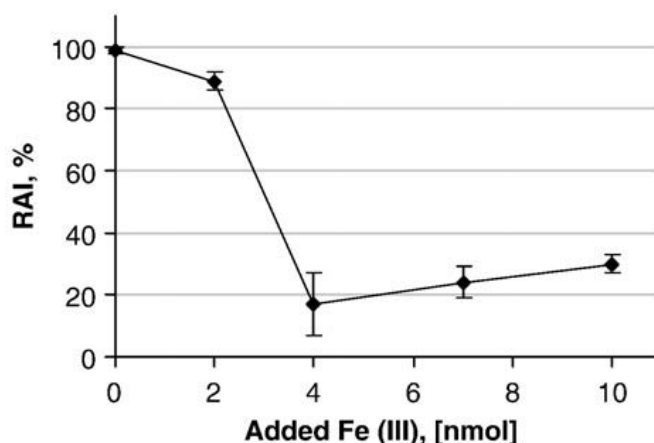


Рисунок 15 – Выход реакции мечения  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATOC (RAI – radioactivity incorporation) в присутствии различных количеств  $\text{Fe}^{3+}$  в реакционной смеси [66]

Интересным является тот факт, что авторы не отметили какого-либо влияния присутствия  $\text{Al}^{3+}$  на выход реакции мечения: степень инкорпорирования  $^{68}\text{Ga}$  составляла > 95 % даже при концентрациях  $\text{Al}^{3+}$ , превышающих концентрацию DOTATOC в реакционной смеси. Авторы подтверждают это литературными данными, указывающими, что галлий активно конкурирует с алюминием в реакциях комплексообразования со многими лигандами, в частности тартратом [67]. Также авторы провели исследования связывания стабильного Ga с DOTATOC в смесях (Ga + Fe) и (Ga + In) с эквимольным соотношением всех компонентов при микроволновом и конвекционном нагреве реакционной смеси (оценку эффективности инкорпорирования металлов проводили полуколичественным

методом с использованием LC-ESI-MS – жидкостная хроматография, сопряжённая с масс-спектрометрией при ионизации в электроспрее) – Таблица 5.

Таблица 5 – Величина инкорпорирования металлов в молекулу DOTATOC из смесей эквимольного состава всех компонентов при микроволновом и конвекционном нагреве [66]

	<i>Микроволновой нагрев</i>	<i>Конвекционный нагрев</i>
	<b>смесь (Ga + Fe)</b>	
<i>Ga-DOTATOC</i>	97 ± 1,4	98 ± 1,4
<i>Fe-DOTATOC</i>	3 ± 1,4	2 ± 1,4
	<b>смесь (Ga + In)</b>	
<i>Ga-DOTATOC</i>	83 ± 5,7	58 ± 2,8
<i>In-DOTATOC</i>	17 ± 5,7	42 ± 2,8

Исходя из экспериментальных данных, авторы делают заключение, что скорость реакции между Ga и DOTATOC много выше, чем между Fe и DOTATOC. Инкорпорирование Ga составило ~ 97 % из эквимольной смеси с Fe, что согласуется с экспериментальными данными, полученными при использовании <sup>68</sup>Ga: выход реакции мечения составлял 24 % даже при 1000-кратном избытке Fe в реакционной смеси. При этом тип нагрева не оказал хоть сколько заметного эффекта. Результаты в случае смеси (Ga + In) также имеют схожий характер, однако тут было видно благодаря микроволновому нагреву степень инкорпорирования Ga удалось повысить на ~ 30 % по сравнению с конвекционным нагревом. По результатам исследования авторы делают вывод, что при работе с реальным элюатом генератора <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga присутствие Fe всё же будет играть критическую роль для синтеза РФП надлежащего качества.

В работе [58] было исследовано влияние примесей металлов в реакционной среде на эффективность инкорпорирования <sup>68</sup>Ga в молекулы различных макроциклических хелаторов: NOTA, DOTA, NOPO, TRAP, – Рисунок 16.

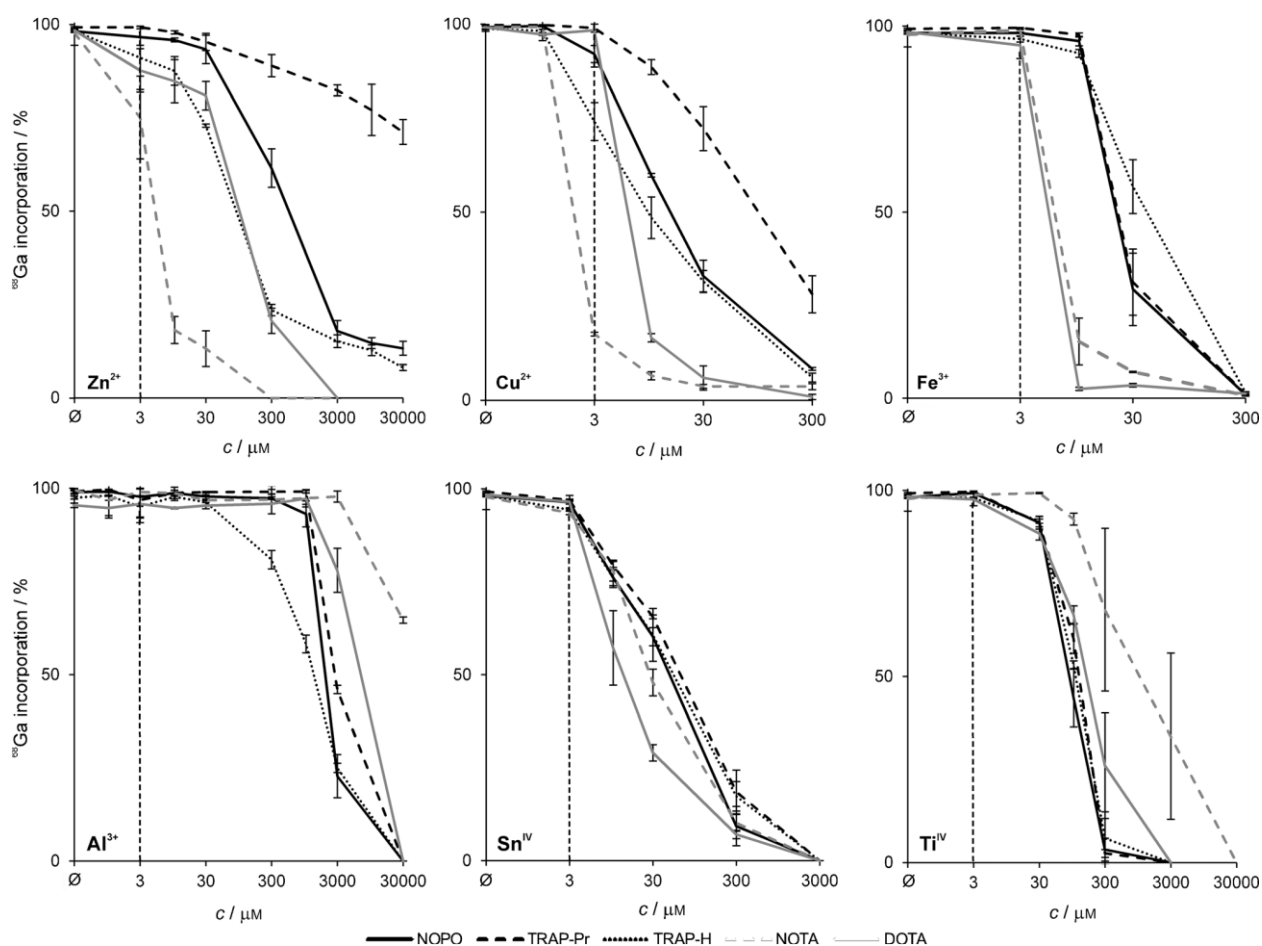


Рисунок 16 – Влияние присутствия в реакционной среде примесей металлов в различных концентрациях на эффективность инкорпорирования  $^{68}\text{Ga}$  в молекулы отдельных макроциклических хелаторов (пунктирная вертикальная линия на каждом графике соответствует эквимольному соотношению примеси и хелатора).

Авторами было установлено следующее:

**Цинк.** Не было отмечено существенного влияния цинка на инкорпорирование  $^{68}\text{Ga}$  в молекулы исследованных БХА, за исключением NOTA, что выглядит странным, потому как комплекс  $^{68}\text{Ga}$ -NOTA из всех исследованных имеет наибольшую термодинамическую стабильность. Примечательно, что для фосфорилированных макроциклов NOPO и TRAP наблюдали высокую степень инкорпорирования  $^{68}\text{Ga}$  даже при 70 % избытке цинка, в отличие от карбоксилированных NOTA и DOTA. Данный эффект был обоснован тем, что Ga активно конкурирует с цинком в реакциях комплексообразования с NOPO и TRAP. С помощью ЯМР-спектроскопии было установлено, что при добавлении свободного галлия в реакционную смесь, уже содержащую комплекс Zn-NOPO или Zn-TRAP, происходит образование комплексов Ga-NOPO или Ga-TRAP соответственно за счёт перелигандирования. Однако, с дальнейшим увеличением концентрации Zn, снижение эффективности

инкорпорирования  $^{68}\text{Ga}$  было отмечено даже для этих БХА. Кинетическими и термодинамическими эффектами этот факт объяснить уже нельзя.

**Медь.** Характер кривых зависимости инкорпорирования  $^{68}\text{Ga}$  в молекулы макроциклов от концентрации меди в реакционной среде весьма схож с таковыми для цинка, что неудивительно в виду их схожих физико-химических свойств (размер иона, заряд, плотность заряда). Однако, влияние меди имеет гораздо более существенное влияние на инкорпорирование  $^{68}\text{Ga}$ , в частности, для NOTA эффективность инкорпорирования  $^{68}\text{Ga}$  падает до 18 % при эквимольном соотношении примеси и хелатора. Этот факт авторы объясняют тем, что медь имеет гораздо большее сродство к азоту в качестве атома-донора неподелённой пары электронов.

**Железо.** Железо является наиболее критической примесью, которая будет присутствовать в реакционной среде даже при использовании в качестве элюента для генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  соляной кислоты высочайшей степени очистки (Merck, Ultrapure), а физико-химические свойства галлия и железа (одинаковая величина и плотность заряда, а также практически одинаковые ионные радиусы – 62 пм для  $\text{Fe}^{3+}$  и 65 пм для  $\text{Ga}^{3+}$ ) свидетельствуют о их крайне схожем поведении в реакциях комплексообразования. Авторы обнаружили, что фосфорилированные макроциклы NOPO и TRAP имеют в реакционной среде большее сродство к галлию, чем к железу: эффективность инкорпорирования  $^{68}\text{Ga}$  в молекулы этих макроциклов была > 90 % в присутствии 10  $\mu\text{моль}$   $\text{Fe}^{3+}$ , тогда как для карбоксилированных макроциклов NOTA и DOTA выход реакции мечения в данных условиях сводился практически к нулю.

**Алюминий.** В экспериментах не было обнаружено никакого существенного влияния присутствия  $\text{Al}^{3+}$  на эффективность инкорпорирования  $^{68}\text{Ga}$  в молекулы макроциклов вплоть до концентрации 30  $\mu\text{моль}$ . Тем не менее, снижение выхода реакции мечения было отмечено для всех макроциклов в присутствии  $\text{Al}^{3+}$  более 1  $\mu\text{моль}$ , при этом наименьшее влияние данный катион оказывал на хелатор NOTA.

**Олово и титан.** Данные металлические примеси также заслуживают отдельного внимания, так как могут находиться в элюате генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  в значительных количествах, в виду использования  $\text{SnO}_2$  и  $\text{TiO}_2$  в качестве матрицы генераторов. Изучение влияния данных примесей крайне затруднительно, потому что химия их водных растворов сильно отличается от описанных выше элементов. Умеренно кислотные растворы олова и титана содержат не только аквакомплексы, но и смесь моно- и олигомерных образований имеющих оксо- и гидроксогруппы в

концевых (терминальных) и мостиковых позициях. Более того, присутствие различных химических форм данных металлов в растворе сильно зависит от величины pH, ионной силы раствора, присутствия других химических соединений, концентрации и температуры. При изменении pH реакционной среды и/или нагревании, данные элементы могут образовать коллоиды, которые приведут к неизотопному соосаждению  $^{68}\text{Ga}$  (по закону Хлопина) и снижению эффективности реакции его связывания с хелаторами. В экспериментах было показано, что характер влияния данных примесей на эффективность инкорпорирования  $^{68}\text{Ga}$  в молекулы макроциклов весьма схож, но  $\text{Ti}^{4+}$  оказывает существенное меньшее влияние, чем  $\text{Sn}^{4+}$ . При этом, хелатор NOTA оказался наиболее чувствительным к присутствию  $\text{Sn}^{4+}$  и наименее чувствительным – к  $\text{Ti}^{4+}$ .

В целом, авторы приходят к выводу, что для ставших уже классическими хелаторов NOTA и DOTA прослеживается серьёзное влияние на эффективность реакции мечения присутствия  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Zn}^{2+}$ , и их содержание должно быть минимизировано для синтеза радиофармацевтических препаратов с высокой молярной активностью. Также авторы отмечают, фосфорилированные хелаторы NOPO и TRAP проявляют высокую селективность к галлию и низкую чувствительность к присутствию примесных катионов металлов, в виду чего они должны быть рассмотрены, как потенциально более подходящие хелатирующие агенты для синтеза РФП на основе  $^{68}\text{Ga}$ .

В работе [68] было изучено влияние примесей металлических катионов на выход реакции мечения DOTATATE с  $^{68}\text{Ga}$  – Рисунок 17.

Как и в работе [58] авторы отмечают, что наиболее критичное влияние на эффективность инкорпорирования  $^{68}\text{Ga}$  в молекулу DOTATATE имеют примеси Fe(III) и Cu(II), а также In(III). Кроме того, авторы обнаружили, что катионы Cu(II) в реакционной смеси способны вытеснять  $^{68}\text{Ga}$  из уже сформировавшегося комплекса  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE, что делает медь наиболее критичной примесью (ни с одним другим металлом, в том числе Fe(III) подобного эффекта не наблюдалось). Авторы отмечают, что для синтеза РФП на основе  $^{68}\text{Ga}$  надлежащего качества с высокой молярной активностью, ключевое значение имеет не абсолютное количество примеси, активность  $^{68}\text{Ga}$  и количество прекурсора, а соотношение примесь:прекурсор – оно должно быть не более 1:1 (Рисунок 18).

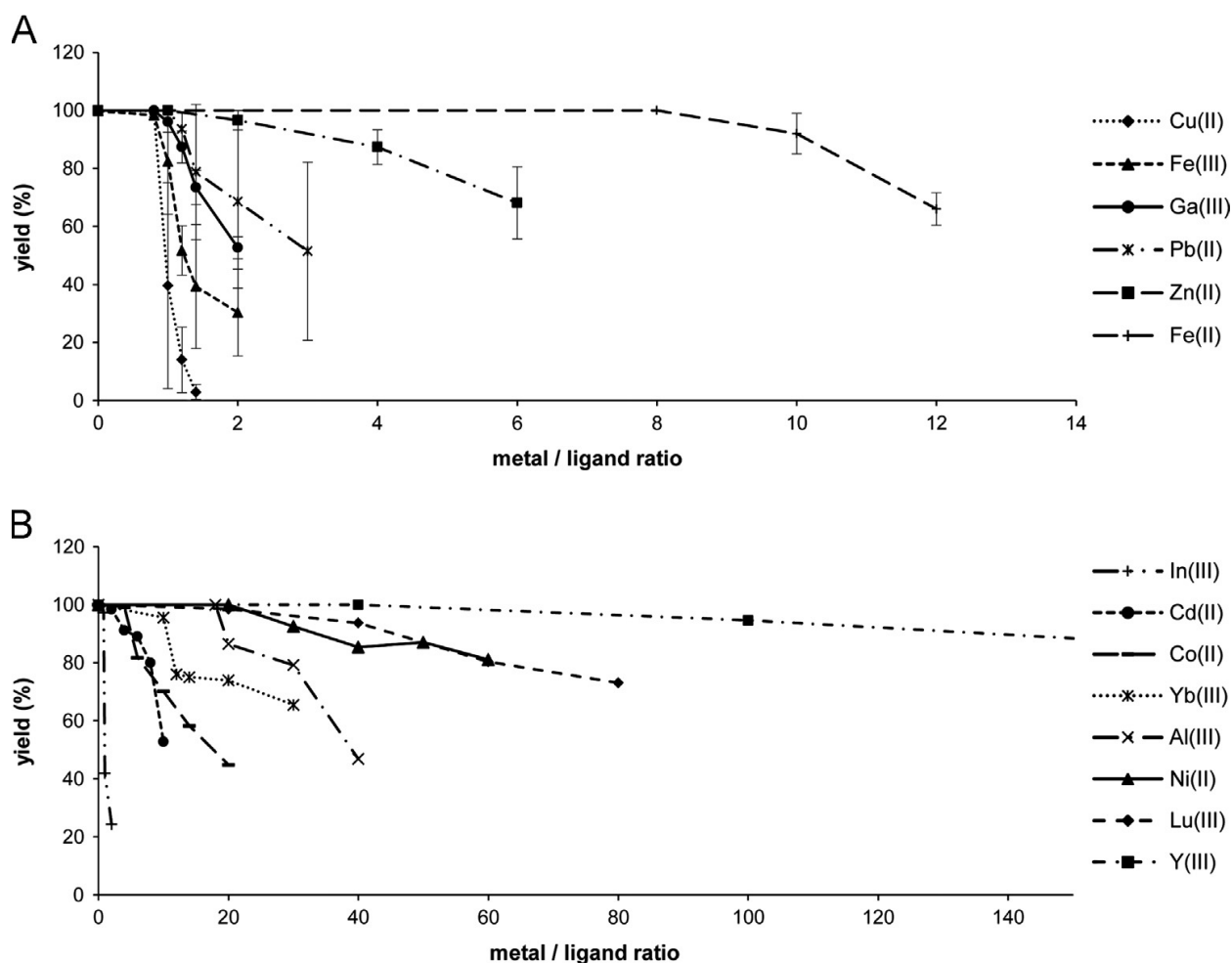


Рисунок 17 – Влияние добавки металлических катионов в реакцию смесь на выход образования  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE (pH 4, 95 °C, 10 мин, 5 нмоль DOTATATE) [68]

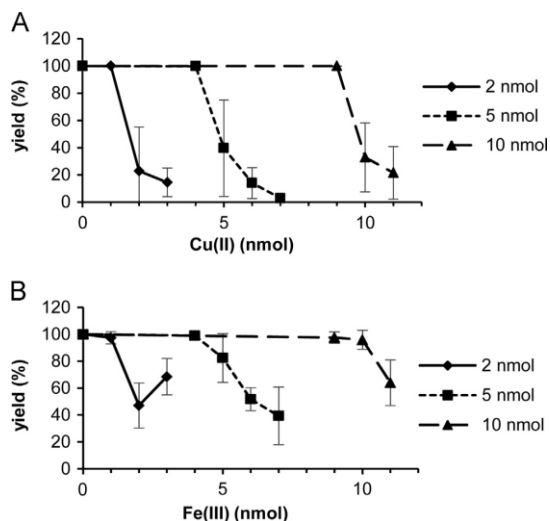


Рисунок 18 – Влияние добавки металлических катионов Fe(III) и Cu(II) в реакцию смесь на выход образования  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE (pH 4, 95 °C, 10 мин) при различных содержаниях прекурсора [68]

Описанные выше исследования говорят о том, что для синтеза радиофармацевтических препаратов на основе  $^{68}\text{Ga}$  из БХА-конъюгированных прекурсоров необходимо учитывать влияние примесей металлов в элюате. Чем

большую величину молярной активности и эффективности реакции мечения необходимо получить, тем меньшее содержание неизотопных носителей (особенно железа, меди, цинка и свинца) должно быть в реакционной смеси. Таким образом, универсальное применение некондиционированного элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  непосредственно для синтеза РФП высокого качества невозможно.

### **1.8 Методы кондиционирования $^{68}\text{Ga}$ для синтеза РФП**

На сегодняшний день предложено несколько подходов по подготовке элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  с доказанной эффективностью для синтеза РФП. Метод очистки и концентрирования элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  с использованием анионообменной смолы исторически был предложен первым [69,52]. Суть метода заключается в том, что элюат генератора смешивают с концентрированной  $\text{HCl}$  для получения в растворе концентрации кислоты 4-6 моль/л. При таких показателях среды галлий в растворе находится в форме анионных комплексов – хлоргаллатов  $[\text{GaCl}_4]^-$  и  $[\text{GaCl}_6]^{3-}$  – и может быть количественно сорбирован сильноосновной анионообменной смолой, а затем элюирован со смолы разбавленной кислотой или водой. Аналогичный подход был использован в работе [70].

В работе [69] был применён метод очистки и концентрирования  $^{68}\text{Ga}$  из элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  на основе  $\text{TiO}_2$  (ЗАО «Циклотрон», Обнинск) на коммерчески доступных анионообменных смолах и готовых картриджах (Таблица 6). Наилучшие результаты были получены на анионите Dowex AG 1×8 в  $\text{OH}^-$ -форме и картридже SAX SPEC, Chromafix (45 мг сильноосновной анионообменной смолы с функциональной группой в виде четвертичного аммонийного основания в  $\text{HCO}_3^-$ - форме).

Таблица 6 – Результаты по сорбции-десорбции  $^{68}\text{Ga}$  на различных анионообменных смолах [69]

<b>Анионит</b>	<b>Форма</b>	<b>Степень извлечения <math>^{68}\text{Ga}</math> при сорбции, %</b>	<b>Степень извлечения <math>^{68}\text{Ga}</math> при десорбции, %</b>
AG 1×8 (100-200 mesh)	$\text{OH}^-$	$81 \pm 4$	$69 \pm 3$
AG 1×8 (200-400 mesh)	$\text{OH}^-$	$98 \pm 2$	$85 \pm 5$
AG 1×4 (100-200 mesh)	$\text{OH}^-$	$65 \pm 5$	$80 \pm 3$
AG 1×2 (200-400 mesh)	$\text{OH}^-$	$45 \pm 4$	$68 \pm 2$
SAX SPEC, Isolute, 50 мг	$\text{Cl}^-$	< 4	-
SAX SPEC, NTK kemi, 15 мг	$\text{Cl}^-$	< 4	-
SAX SPEC, Isolute, 50 мг	$\text{OH}^-$	9	-
SAX SPEC, NTK kemi, 15 мг	$\text{OH}^-$	7	-
SAX SPEC, Chromafix, 45 мг	$\text{HCO}_3^-$	$99 \pm 1$	$93 \pm 2$

Было установлено, что степень извлечения  $^{68}\text{Ga}$  на анионитах растёт вместе с ростом кислотности среды: от 0,8 % при 0,1 М HCl, до ~ 99 % при 3,8 М HCl (в соответствии с измеренным коэффициентом распределения  $D_g > 10^5$ ).

В экспериментах применяли колонку  $\varnothing$  4 мм, скорость потоков составляла 4 мл/мин. Элюат генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ , объёмом 6 мл доводили до концентрации 4 М HCl. Для элюирования  $^{68}\text{Ga}$  применяли деионизованную воду.  $90 \pm 2$  % от начальной активности  $^{68}\text{Ga}$  (с учётом распада) после процесса очистки от примеси материнского радионуклида  $^{68}\text{Ge}$  были сконцентрированы в 200  $\mu\text{л}$ . Авторы использовали в работе различные среды для десорбции  $^{68}\text{Ga}$ , и заключили, что водный 50 % раствор этанола может быть также успешно использован как альтернатива воде, а от использования для десорбции водного раствора ацетата натрия (ацетатный буфер) авторы предпочли воздержаться в виду больших потерь за счёт остаточной активности на картридже ( $> 30$  %).

Полученный концентрат был успешно применён для синтеза  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATOC – выход реакции мечения составил 99,9 %. Стоит отметить, что столь высокое инкорпорирование  $^{68}\text{Ga}$  в молекулу биоконъюгата авторы объясняют, главным образом, использованием микроволнового нагрева ( $90 \pm 5$  °C в течение 1 мин), позволяющего синтезировать препараты с чрезвычайно высокой молярной активностью (~ 2-4 ГБк/нмоль). Никаких дополнительных процедур очистки конечного препарата авторы не применяли. Стоит отметить, что данных по эффективности очистки от  $^{68}\text{Ge}$  авторы не приводят, руководствуясь лишь убеждением, что  $^{68}\text{Ge}$  не будет сорбироваться на анионообменной смоле в реализуемых условиях процесса [71]. Что касается неизотопных носителей, авторы демонстрируют снижение концентрации Ti в полученном концентрате более чем на 90 % по сравнению с исходным элюатом.

Аналогичный подход был реализован в работе [52]. Для преконцентрирования и очистки элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  на основе  $\text{TiO}_2$  (ЗАО «Циклотрон», Обнинск), была использована тефлоновая хроматографическая колонка (30 мм  $\times$   $\varnothing$  1,8 мм), заполненная 50  $\mu\text{л}$  смолы Bio-Rad AG 1  $\times$  8 (0,1-0,2 мм) в OH<sup>-</sup>-форме (Рисунок 19 – схема устройства для реализации описанного процесса).



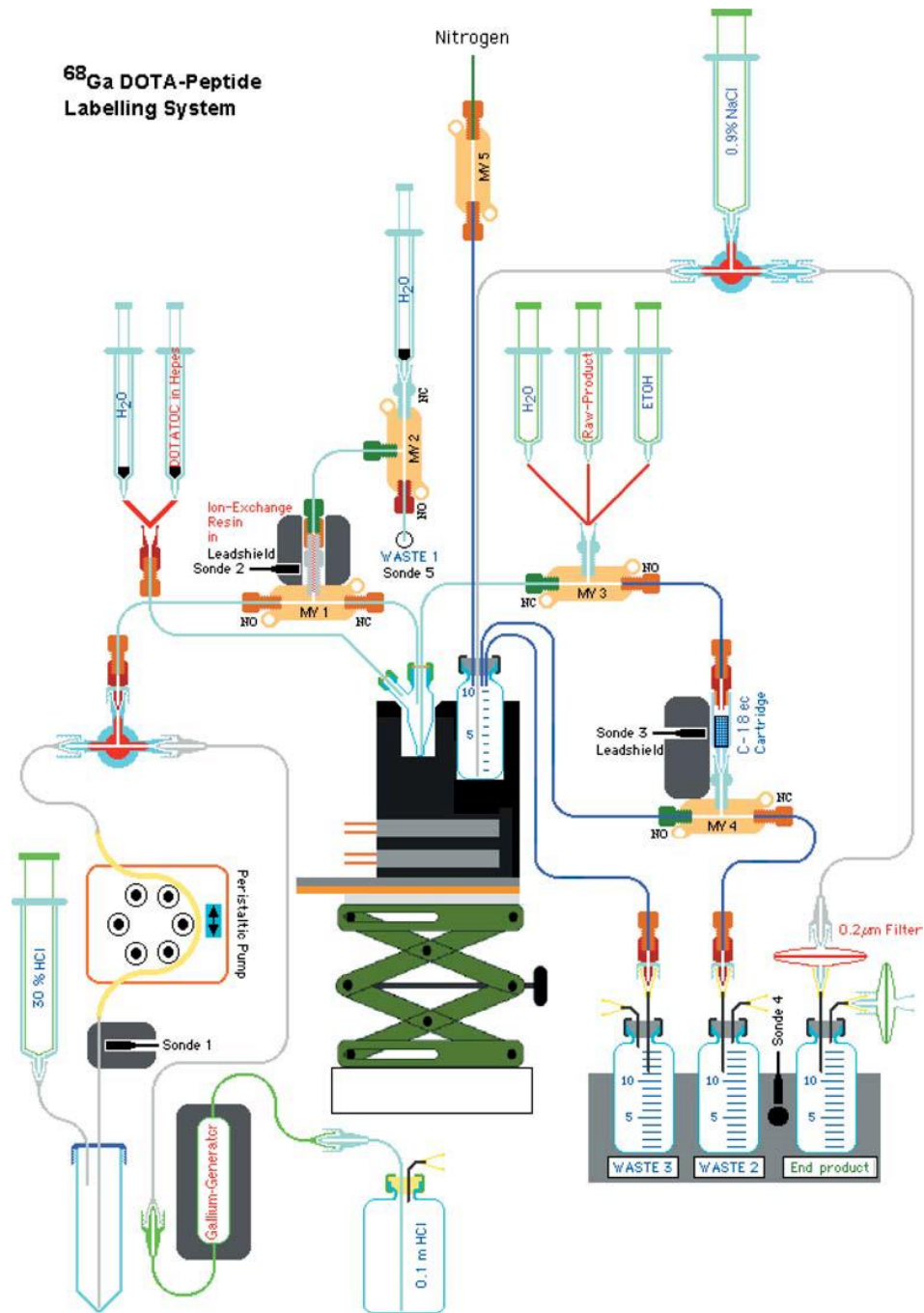


Рисунок 19 – Схема очистки и концентрирования элюата генератора <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga на анионообменной смоле [52]

10 мл элюата генератора <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga (элюент - 0,1 М HCl) смешивали с 15 мл соляной кислоты 9,5 М для получения в рабочем растворе концентрации 5,5 М HCl. Конечный раствор пропускали через колонку со скоростью 4 мл/мин. Степень извлечения <sup>68</sup>Ga составила 97 ± 2 %. После сорбции колонку промывали 1 мл особо чистой соляной кислоты 5,5 М и высушивали потоком азота. Для десорбции <sup>68</sup>Ga применяли дионизованную воду. Степень извлечения при десорбции составила 90 ± 3 %. Активность была сконцентрирована в 80 µл. Выход процесса концентрирования по <sup>68</sup>Ga составил 80 ± 5 %. Полученный концентрат был

использован для синтеза  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATOC,  $^{68}\text{Ga}$ -DOTANOC и  $^{68}\text{Ga}$ -DOTAVOM. Необходимое для мечения значение pH (3,5 - 4) создавали добавлением HEPES в качестве буфера. После инкубирования реакционной смеси для выделения конечного продукта применяли твёрдофазную экстракцию на картридже C18 (силикагель, модифицированный октадецильной фазой, 30 мг, Sep-Pak). Выход реакции мечения по активности для всех трёх пептидов составил  $58 \pm 20$  %, а радиохимическая чистота -  $> 98$  %. Эффективность разработанной технологии для синтеза РФП была подтверждена более чем 80 успешными синтезами в течении одного года. Тем не менее, авторы не приводят никаких данных по эффективности очистки элюата от неизотопных носителей, а также измеренные величины проскока материнского  $^{68}\text{Ge}$  в исходном элюате и сконцентрированном растворе не имеют хоть сколько бы существенного отличия.

Важно отметить, что, судя по данным [72,73], данный метод весьма неэффективен для очистки в динамических условиях элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  от микропримесей Fe(III) и Zn(II), так как они также образуют анионные хлорокомплексы, а также от Cu и Al, так как применяемый для десорбции элюент (вода или соляная кислота от 0,1 до 6 М, в зависимости от выбранного анионита) крайне неселективен. Основными недостатками данной технологии, помимо неселективности очистки, является использование концентрированной (!) соляной кислоты, сложность организации процесса *on-line* и нестабильность в кислотности финального раствора.

Однако, в работе [70] значительное снижение концентрации всех исследованных примесных элементов всё-таки имело место. В сравнительных экспериментах использовали волокнистые сорбенты Полиоргс (ГЕОХИ РАН) и их гранулированные аналоги. Наилучшие результаты были получены с использованием Полиоргс-17-Н (сильноосновный анионообменник на основе сополимера стирола и дивинилбензена в матрице из нетканого волокна, функциональная группа - 1,3(5)-диметилпиразол) для очистки и концентрирования элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  на основе  $\text{TiO}_2$  (ЗАО «Циклотрон», Обнинск) в динамических условиях. Элюат генератора в динамическом режиме доводили до концентрации 6 М HCl, и пропускали через колонку с сорбентом со скоростью 2 мл/мин. Степень извлечения  $^{68}\text{Ga}$  при сорбции составила 96,5 %. Для десорбции применяли соляную кислоту 0,01 М HCl (Рисунок 20 - технологическая схема реализованного процесса).

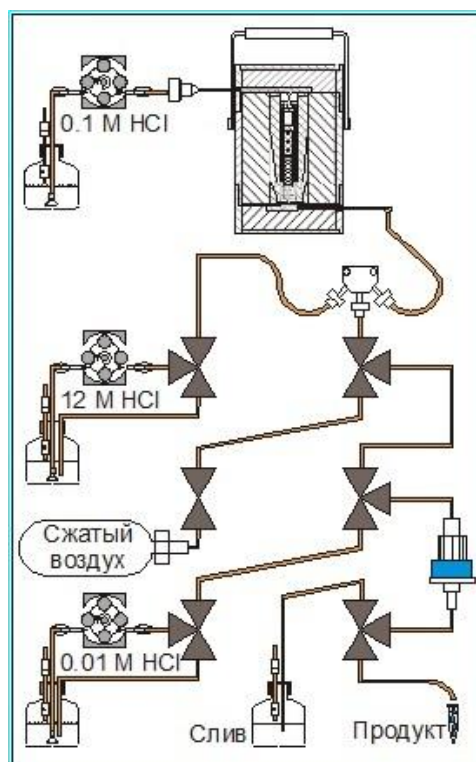


Рисунок 20 – Технологическая схема процесса кондиционирования элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  [70]

82 % сорбированной активности удалось сконцентрировать в 120  $\mu\text{л}$ . Количественное содержание примесей в образцах исходного (С<sub>и</sub>) и кондиционированного (С<sub>к</sub>) элюатов идентифицировали методом ICP-MS (Таблица 7).

Таблица 7 – Результаты количественного определения примесей до и после процесса кондиционирования [70]

Примесь	С <sub>и</sub> , $\mu\text{г}/\text{МБк } ^{68}\text{Ga}$	С <sub>к</sub> , $\mu\text{г}/\text{МБк } ^{68}\text{Ga}$	Степень очистки
<i>Cu</i>	$5,2 \times 10^{-4}$	$5,5 \times 10^{-5}$	9,4
<i>Fe</i>	$3,5 \times 10^{-2}$	$3,1 \times 10^{-3}$	11,0
<i>Al</i>	$8,3 \times 10^{-3}$	$6,2 \times 10^{-4}$	13,4
<i>Pb</i>	$8,2 \times 10^{-3}$	$4,2 \times 10^{-4}$	19,2
<i>Cr</i>	$2,7 \times 10^{-3}$	$9,3 \times 10^{-5}$	29,0
<i>Zn</i>	$6,1 \times 10^{-1}$	$2,0 \times 10^{-2}$	31,0
<i>Co</i>	$9,4 \times 10^{-5}$	$2,9 \times 10^{-6}$	32,5
<i>Ca + Mg</i>	$3,1 \times 10^{-2}$	$9,5 \times 10^{-4}$	33,3
<i>Cd</i>	$2,7 \times 10^{-3}$	$1,1 \times 10^{-5}$	250,6
<i>Ni</i>	$4,0 \times 10^{-3}$	$9,0 \times 10^{-6}$	444,6
<i>Ti</i>	$1,1 \times 10^{-2}$	$7,0 \times 10^{-6}$	1565,5

Также авторы отметили снижение радионуклидной примеси  $^{68}\text{Ge}$  в  $\sim 20$  раз.

Наиболее простое решение проблемы преконцентрирования элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  было изложено в работе [74]. Предложенный подход требует фракционирования элюата: исходя из профиля элюирования генератора (Рисунок

21), для работы отбирается та фракция, в которой наблюдается максимальный выход  $^{68}\text{Ga}$  («вырез» пика активности). Таким образом порядка 80 % элюируемой из генератора активности может быть сконцентрировано в ~ 1 мл элюата.

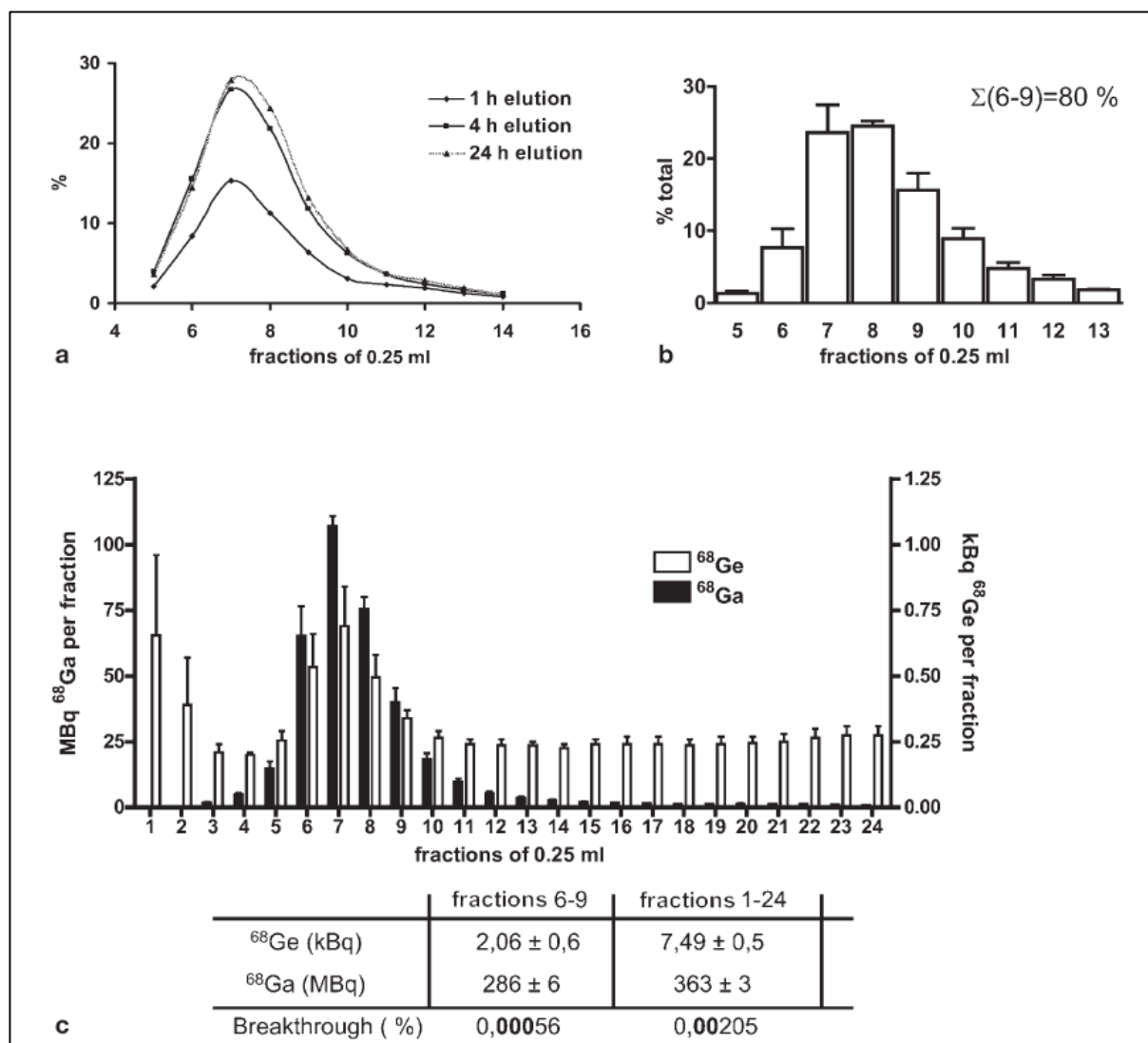


Рисунок 21 – Параметры элюирования генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ , использованные при фракционировании элюата [74]

Хотя этот подход не исключает, а только пропорционально уменьшает металлические и радионуклидные примеси, он был успешно использован для синтеза  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATOC (выход реакции меченя составил > 95%). Данных по изменению содержания неизотопных носителей авторы не приводят, что касается радионуклидной примеси  $^{68}\text{Ge}$ , то его содержание может быть снижено на один порядок. Однако в повседневной медицинской практике, при соблюдении стандартов GMP (*Good Manufacturing Practice*), этот метод становится неприемлемым при снижении общей активности элюата генератора в соответствии с периодом полураспада материнского радионуклида. Также метод не может быть использован для синтеза биоконъюгатов с высокой молярной и объёмной активностью.

В работе [75] был реализован катионообменный метод выделения и концентрирования  $^{68}\text{Ga}$  (Рисунок 22). Была использована хроматографическая колонка 5 мм × Ø 2,0 мм, заполненная катионообменной смолой Dowex AG 50W×8 (0,2-0,4 мм) в  $\text{H}^+$ -форме. Элюат генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  на основе  $\text{TiO}_2$  (ЗАО «Циклотрон», Обнинск) объёмом 7 мл (0,1 М  $\text{HCl}$ ) пропускали через колонку со скоростью 1 мл/мин. После сорбции колонку промывали раствором 0,15 ÷ 0,2 М  $\text{HCl}$  (80 об. % ацетона). Эта процедура позволяет удалить большую часть химических примесей с колонки, тогда как сорбированный  $^{68}\text{Ga}$  должен количественно оставаться на смоле. Для десорбции  $^{68}\text{Ga}$  применяли раствор 0,05 М  $\text{HCl}$  (97,6 об. % ацетона). Предварительно колонку заполняли 150 µл элюента и выдерживали в течение 2 мин для более полного извлечения  $^{68}\text{Ga}$ , после чего пропускали остальное количество элюента (общий объём 400 µл). Элюент направляли непосредственно в реакционный сосуд, содержащий необходимое количество пептида для мечения (14 нмоль в 4,5 мл воды). После инкубирования реакционной смеси в течение 10 минут при 98 °С, её направляли на картридж для твёрдофазной экстракции C18. Картридж промывали водой (5 мл), а полученный  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATOC элюировали с картриджа 200-400 µл чистого этанола. Полученный этанольный раствор разбавляли физиологическим раствором хлористого натрия.

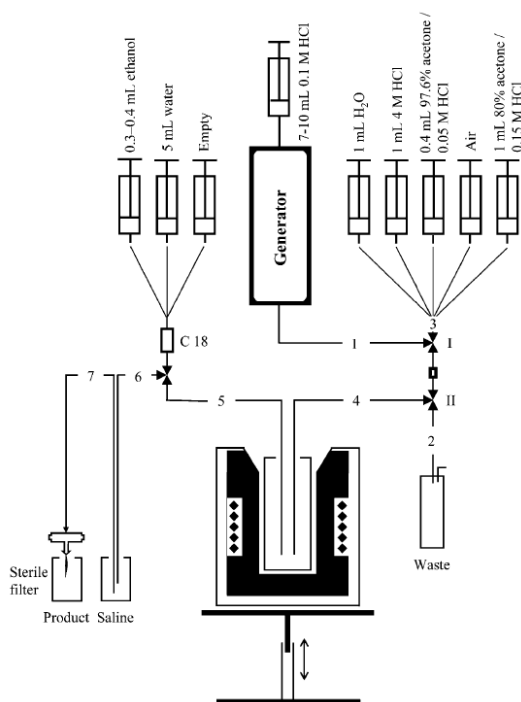


Рисунок 22 – Схема очистки и концентрирования элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  на катионообменной смоле [75]

Радиохимический выход по  $^{68}\text{Ga}$  процесса очистки и концентрирования составил  $97 \pm 2 \%$  (с поправкой на распад). Радиохимический выход реакции мечения DOTATOC составил  $80 \%$  (с поправкой на распад) от изначально элюированной активности. Радиохимическая чистота полученного РФП составила  $99,5 \%$  (главным образом, за счёт стадии твёрдофазной экстракции).

Для определения поведения примесей металлов Fe и Zn и материнского радионуклида  $^{68}\text{Ge}$  в данном процессе авторами был применён метод изотопных индикаторов: процедуру очистки (по вышеизложенному протоколу) выполняли несколько раз на модельных растворах, содержащих радионуклиды  $^{68}\text{Ge}$ ,  $^{59}\text{Fe}$  и  $^{69}\text{Zn}$ .

Данный процесс по всем параметрам был воспроизведён в работе [76]. Авторы изучили эффективность очистки от неизотопных носителей по разработанной технологии на реальных элюатах генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  на основе  $\text{TiO}_2$  (ЗАО «Циклотрон», Обнинск) и полученных из них очищенных и сконцентрированных растворах (Таблица 8).

Таблица 8 – Результаты анализа элюатов и полученных из них растворов методом ICP-MS [76]

Катионы (мг/л)	Перед очисткой	После очистки
Fe(III)	$2100 \pm 1300$	$17,6 \pm 11,4$
Zn(II)	$5050 \pm 147$	$52,7 \pm 16,2$
Mn(II)	$42,3 \pm 25,5$	$0,9 \pm 0,3$
Pb(II)	$8,5 \pm 5,3$	$9,7 \pm 4,6$
Ti(IV)	$14,7 \pm 6,6$	$3,1 \pm 4,6$
Cr(III)	$504 \pm 132$	$3,4 \pm 0,7$
Al(III)	$1080 \pm 125$	$9,1 \pm 7,1$
Cd(II)	$0,39 \pm 0,3$	$0,07 \pm 0,05$
Co(II)	$4,3 \pm 2,2$	$0,12 \pm 0,11$
Cu(II)	$14,5 \pm 6,2$	$6,5 \pm 3,1$
Ni(II)	$254 \pm 124$	$0,6 \pm 0,2$
V(IV)	$6,1 \pm 3,2$	$1,6 \pm 0,5$
$^{68}\text{Ge}$ (Бк/мл)	$12300 \pm 400$	$< 0,1$

Полученные авторами результаты демонстрируют снижение концентрации примесей Fe(III), Zn(II), Mn(II), Cr(III), Al(III), Co(II) и Ni(II) более чем на  $95 \%$ , а примесей Cd(II), V(IV) и Ti(IV) более чем на  $75 \%$ . Также авторы отмечают снижение количества радионуклидной примеси  $^{68}\text{Ge}$  в  $10^5$  раз в конечном растворе. По результатам серии синтезов  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATOC ( $n=33$ ) радиохимический выход процесса по  $^{68}\text{Ga}$  без поправки на распад составил  $59,3 \pm 2,8 \%$ , а общее время синтеза ~ 23 минуты.

В работе [77] данный процесс был реализован на автоматизированном модуле (Modular-Lab, Eckert & Ziegler Eurotop GmbH). Для осуществления процесса авторы использовали различные типы катионообменников: самостоятельно изготовленные колонки 5 мм × Ø 2,0 мм, содержащие 60 мг смолы Bio-Rad AG 50W×4 и коммерчески доступные картриджи Strata-X-C 30 мг (Phenomenex). В случае колонок Bio-Rad авторы полностью следовали технологии [75], а в случае картриджей Strata-X-C (руководствуясь собственными экспериментальными данными) для десорбции <sup>68</sup>Ga использовали 0,8 мл раствора 0,02 М HCl (98 об. % ацетона) без предварительной промывки. Для каждого случая авторы оценили эффективность выделения <sup>68</sup>Ga с очисткой от <sup>68</sup>Ge (Таблица 9), а также эффективность по снижению концентрации примесных элементов (Таблица 10).

Таблица 9 – Распределение <sup>68</sup>Ga и <sup>68</sup>Ge (%) по фракциям рабочих растворов и ионообменным смолам в результате процесса очистки и концентрирования [77]

	Bio-Rad (60 мг)		Strata-X-C (30 мг)	
	<sup>68</sup> Ga, % (n=3)	<sup>68</sup> Ge, % (n=1)	<sup>68</sup> Ga, % (n=3)	<sup>68</sup> Ge, % (n=3)
<b>0,1 М HCl – отходы от элюата генератора <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga</b>	0	83,2	0,2 ± 0,11	61,8 ± 0,82
<b>Ионообменник</b>	0	n/o	10,6 ± 2,81	33,5 ± 1,25
<b>0,15 М HCl (80 об. % ацетона)</b>	4,7 ± 0,57	5,9	-	-
<b>0,05 М HCl (97,6 об. % ацетона)</b>	93,7 ± 1,15	2,5	-	-
<b>0,02 М HCl (98 об. % ацетона)</b>	-	-	89,2 ± 2,75	4,7 ± 0,99
<b>4 М HCl + вода</b>	1,0 ± 0,1	8,4	-	-

Таблица 10 – Содержание примесных металлов в конечном растворе после процесса очистки [77]

Металл	Концентрация (ppb)	
	Bio-Rad	Strata-X-C
<b>Cu</b>	35	20 ± 0,1
<b>Zn</b>	< 455	210 ± 0
<b>Fe</b>	30	113 ± 0,2
<b>Al</b>	35	115 ± 0,1

Из экспериментальных данных видно, что снижение радионуклидной примеси <sup>68</sup>Ge более чем на 90 % и выделение <sup>68</sup>Ga более чем на 85 % возможно для обоих типов ионообменных смол. Снижение концентрации железа и алюминия в конечном растворе более эффективно при использовании смолы Bio-Rad, а меди и цинка при использовании Strata-X-C. Полученные растворы <sup>68</sup>Ga были использованы для синтеза

$^{68}\text{Ga}$ -DOTATOC (30  $\mu\text{g}$  DOTATOC в воде), при этом суммарный радиохимический выход процесса по  $^{68}\text{Ga}$  (%) составил  $78,0 \pm 8,45$  (с поправкой на распад) и  $58,1 \pm 7,61$  (без поправки на распад для смолы Bio-Rad, и  $77,1 \pm 1,57$  (с поправкой на распад) и  $64,2 \pm 2,28$  (без поправки на распад). Во всех случаях радиохимическая чистота полученных препаратов была  $\sim 99\%$  (опять же, за счёт применения стадии твёрдофазной экстракции).

Основным недостатком описанного метода является использование ацетона, как одного из компонентов рабочих растворов. Во-первых, содержание ацетона, как остаточного органического растворителя в РФП, строго контролируется Фармакопеей, что неминуемо ведёт к необходимости осуществления дополнительных аппаратно сложных методов анализа (газовая хроматография) во время контроля качества готового РФП. Во-вторых, чтобы удалить ацетон из реакционной смеси необходимо использовать процедуру твёрдофазной экстракции. При этом меченное соединение получается в среде чистого этанола, который должен быть разбавлен физиологическим раствором хлористого натрия до допустимой концентрации. В виду этого готовый к введению препарат получают в достаточно большом (5 – 7 мл) объёме, и, как следствие, с низкой объёмной активностью. Также необходимость использования твёрдофазной экстракции приводит к невозможности использования данной технологии для синтеза РФП из гидрофильных прекурсоров [78]. В-третьих, наличие альдольно-кетоновой конденсации между ацетоном и соляной кислотой ведёт к образованию мезитилоксида [77,79] и, как следствие, крайне непродолжительному сроку годности рабочих растворов, не позволяющему их изготовление в составе готовых наборов для синтеза – растворы должны быть свежеприготовленными для каждого синтеза и храниться в прохладном защищённом от света месте. Последним по порядку, но не по значению недостатком описанной технологии является опубликованный в недавней работе [80] факт, что проведение реакции мечения пептидов в ацетоновой среде приводит к их химической деградации, при этом, от этих побочных продуктов невозможно избавиться твёрдофазной экстракцией.

В работе [81] авторами был реализован комбинированный катионо-анионный метод очистки и концентрирования элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  в самом очевидном своём варианте.

$^{68}\text{Ga}$  из элюата самостоятельно изготовленного генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  первоначально сорбировали на колонке с катионообменной смолой Dowex AG 50W  $\times$



8. Далее  $^{68}\text{Ga}$  десорбировали со смолы с помощью 4 М HCl, и пропускали полученный элюат через колонку с анионообменной смолой UTEVA (по сути, являющейся твёрдофазным экстрагентом), где происходит сорбция  $^{68}\text{Ga}$ . Для десорбции  $^{68}\text{Ga}$  использовали 0,1 М HCl. Выход процесса очистки с поправкой на распад составил  $95 \pm 1\%$  ( $n = 7$ ). Время процесса 22 мин. Содержание материнского радионуклида –  $10^{-7}\%$ . Объём очищенного раствора – 2-5 мл. Авторы отмечают, что, помимо большого объёма, финальный раствор содержит высокое количество фосфора и кальция, попадающих туда с анионообменной смолы. Однако, авторы отмечают высокую степень чистоты конечного раствора от примесей металлов (Таблица 11).

Таблица 11 – Содержание примесных элементов в конечном растворе после процесса очистки в сравнении с деионизованной водой, использованной в процессе [81]

Элемент	Содержание, нг/мл = ppb	
	Финальный раствор $^{68}\text{Ga}$	Деионизованная вода
Mg	23	1,8
Al	51	11
P	1220	39
Ca	192	11
Cr	6,4	0,8
Mn	1,2	0,1
Fe	16	24
Co	0,4	0,004
Ni	2,3	0,7
Cu	2,0	0,3
Zn	31	0,7
Mo	0,7	1,0
Ba	31	47
La	< 0,1	0,003
Ce	0,2	0,005
W	15	1,2

В работе [82] авторы продолжили разработку концепции комбинированного катионо-анионного обмена. В работе были использованы катионообменная смола Dowex AG 50W×8 (H<sup>+</sup>-форма) и анионообменные смолы Dowex AG 1×8 (Cl<sup>-</sup>-форма) и TODGA (так же, как и в работе [81], являющаяся твёрдофазным экстрагентом на основе тетраалкилдигликольамида) – Рисунок 23.

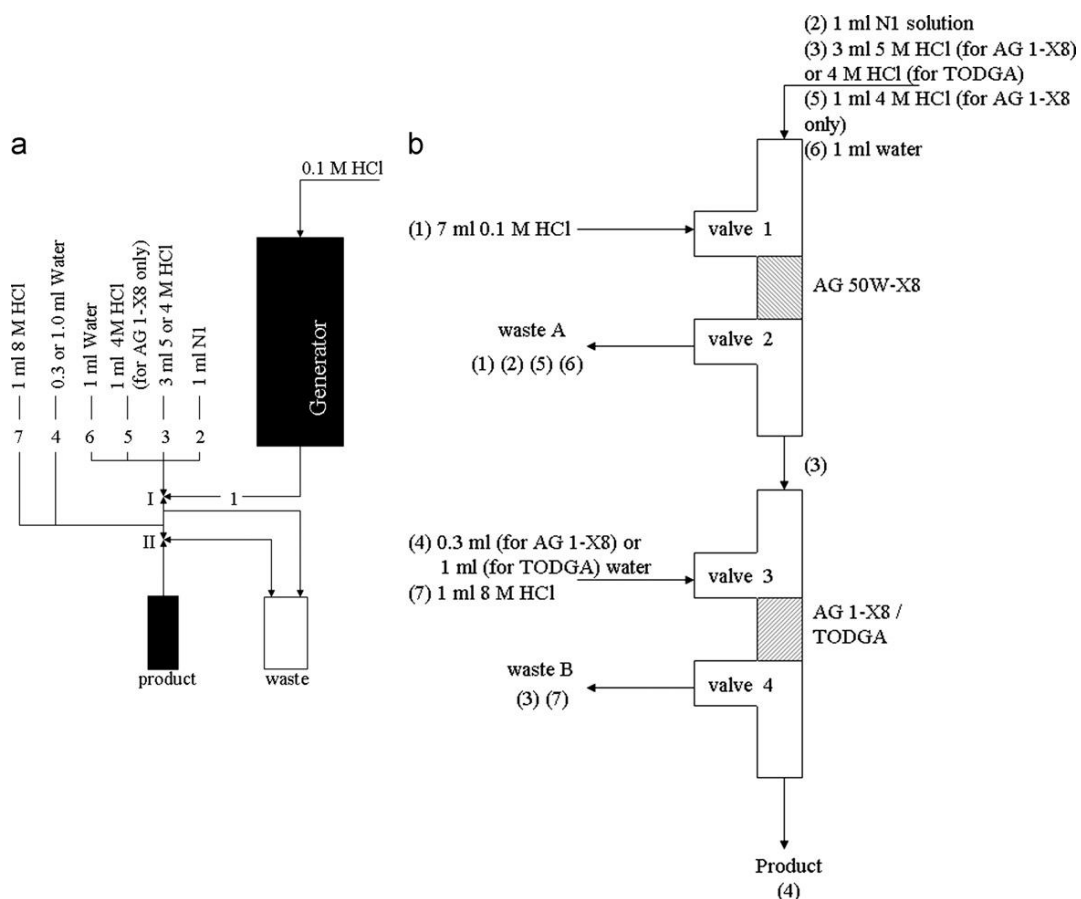


Рисунок 23 – Схема комбинированного катионо-анионного метода концентрирования элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  [82]

Аналогично работе-первоисточнику,  $^{68}\text{Ga}$  из элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  на основе  $\text{TiO}_2$  (ЗАО «Циклотрон», Обнинск) сорбировали на колонке с катионообменной смолой Dowex AG 50W×8 (50 мг). Далее  $^{68}\text{Ga}$  десорбировали со смолы с помощью 4 М HCl, и пропускали полученный элюат через колонку с анионообменной смолой Dowex AG 1×8 (50 мг) или TODGA (100 мг), где происходит сорбция  $^{68}\text{Ga}$ . Так же, как и в работе [75], авторы использовали раствора 0,20 М HCl (80 об. % ацетона) для предварительной очистки катионообменной смолы перед десорбцией  $^{68}\text{Ga}$ . Для десорбции  $^{68}\text{Ga}$  использовали деионизованную воду. Объём деионизованной воды, используемой для десорбции, не менее 1 мл. Время процесса – порядка 5 мин. Радиохимический выход процесса (с поправкой на распад) – 87 % для Dowex AG 1 × 8 и 96 % для TODGA (Таблица 12). pH финального раствора –  $0,3 \pm 0,1$ . Содержание материнского радионуклида в конечном растворе –  $10^{-2}$  % от изначального количества  $^{68}\text{Ge}$  в элюате. Полученный раствор был применён для синтеза  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATOC (выход реакции мечения  $98 \pm 2$  %). Данных по очистке элюата от неизотопных носителей авторы не приводят.

Таблица 12 – Характеристики процесса сорбции-десорбции  $^{68}\text{Ga}$  при комбинировании катионо-анионного обмена [82]

#	Раствор	Объём (мл)	Выход, %	
			$^{68}\text{Ga}$	$^{68}\text{Ge}$
<b><i>Dowex AG 50W×8 (50мг) + Dowex AG 1×8 (50 мг)</i></b>				
1	0,1М HCl	7	0,41 ± 0,57	94,36 ± 2,44
2	0,20 М HCl (80 об. % ацетона)	1	4,50 ± 1,87	3,87 ± 1,52
3	5М HCl	3	5,54 ± 6,98	1,23 ± 0,98
4	Вода	0.3	96,55 ± 4,82	1×10 <sup>-2</sup> ± 1×10 <sup>-2</sup>
5	4М HCl	1	2,67 ± 2,08	0,42 ± 0,15
6	Вода	1	0,33 ± 0,35	0,11 ± 0,05
<b><i>Dowex AG 50W×8 (50мг) + TODGA (100 мг)</i></b>				
1	0,1М HCl	7	0,58 ± 0,06	91,53 ± 1,2
2	0,20 М HCl (80 об. % ацетона)	1	2,20 ± 0,09	6,75 ± 1,19
3	4М HCl	3	1,35 ± 0,16	1,47 ± 0,30
4	Вода	1	95,63 ± 0,21	1×10 <sup>-2</sup> ± 2×10 <sup>-2</sup>
5	Вода	1	0,24 ± 0,05	0,25 ± 0,06

В работе [80] авторы предложили проводить концентрирование и очистку элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  на основе  $\text{TiO}_2$  (Eckert & Ziegler) на катионообменной смоле, с использованием для селективного элюирования  $^{68}\text{Ga}$  с ионита смеси соляной кислоты и водного раствора хлористого натрия (Рисунок 24). Суть технологии заключается в сорбции  $^{68}\text{Ga}$  из элюата генератора на картридже SCX, содержащим 100 мг катионообменной смолы (Varian, BondElut-SCX). Для элюирования  $^{68}\text{Ga}$  с катионообменного картриджа авторы предложили использовать смесь 12,5  $\mu\text{l}$  5,5М HCl и 500  $\mu\text{l}$  5М раствора NaCl. Полученный таким образом элюат  $^{68}\text{Ga}$  добавляли к раствору, содержащему 350  $\mu\text{l}$  ацетатного буфера, 5 мг аскорбиновой кислоты и 50  $\mu\text{g}$  DOTATOC в 3 мл воды. Реакционную смесь нагревали в течение 400 секунд при температуре 90°C. Значение pH реакционной смеси  $3,6 \pm 0,3$ . После нагревания реакционную смесь разбавляли 2 мл воды и пропускали через стерилизующий фильтр. Радиохимическая чистота полученного препарата, определённая методом ТСХ, составила >95 %. Радиохимический выход после стерилизующей фильтрации – порядка 65% (без поправки на распад). Реакционную смесь нейтрализовали добавлением 2 мл стерильного фосфатного буфера. Авторами было осуществлено 56 клинических синтезов  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATOC по разработанной технологии. Содержание  $^{68}\text{Ge}$  в конечном растворе составляло 20-40 Бк, то есть было достигнуто снижение радионуклидной примеси в среднем на три порядка по сравнению с исходным элюатом генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ .

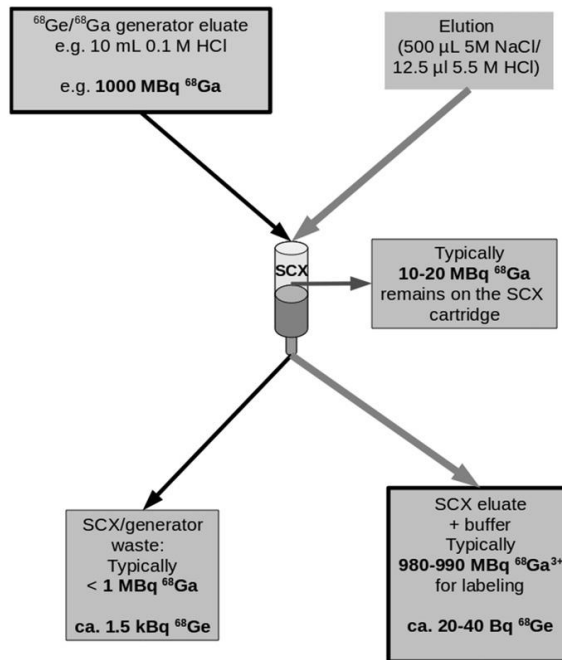


Рисунок 24 – Схема выделения (и распределения по стадиям)  $^{68}\text{Ga}$  на катионообменной смоле по NaCl-технологии [80]

Процесс был реализован в коммерческом автоматизированном модуле Modular-Lab PharmTracer (Eckert & Ziegler Eurotop GmbH, Рисунок 25). Время процесса составило порядка 14 минут.

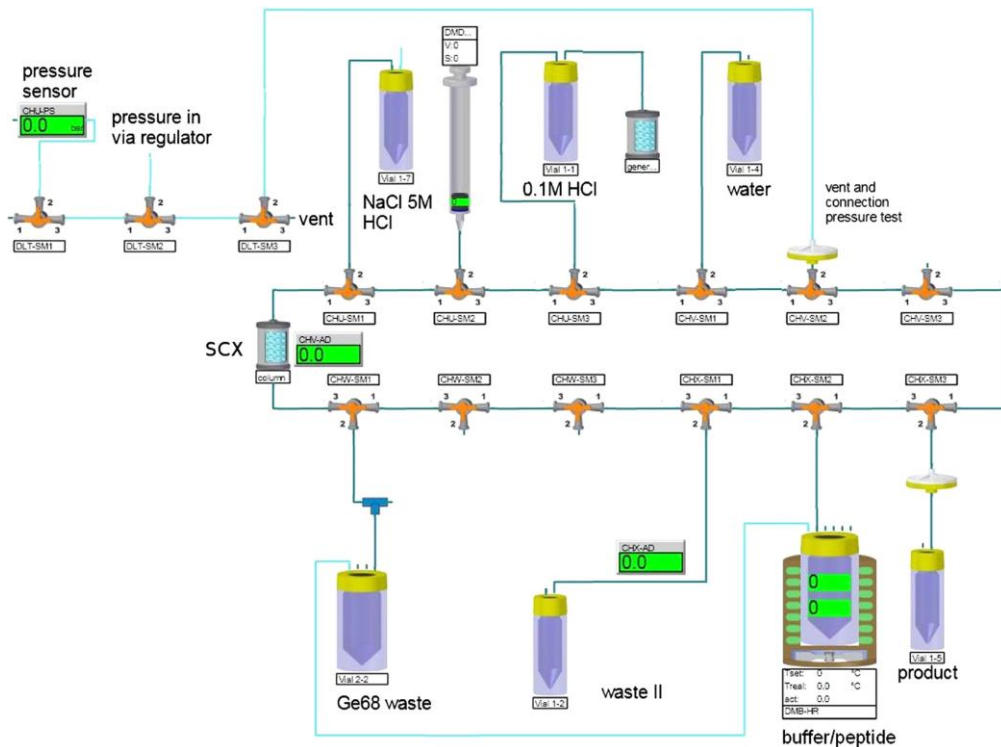


Рисунок 25 – HMI-схема процесса, реализованного в автоматизированном модуле по разработанной технологии [80]

Как уже было сказано ранее, авторами было отмечено, что при использовании разработанной технологии в модуле, в конечном препарате не наблюдали присутствия побочных продуктов мечения, в отличие от HCl-ацетоновой технологии [75], где наблюдали химическую деградацию прекурсора в ацетоновой среде. При этом от данных побочных продуктов нельзя избавиться посредством твёрдофазной экстракции. Это отчётливо подтверждают радио-ВЭЖХ хроматограммы реакционных смесей, полученных по NaCl-технологии (А) и HCl-ацетоновой технологии (В) – Рисунок 26.

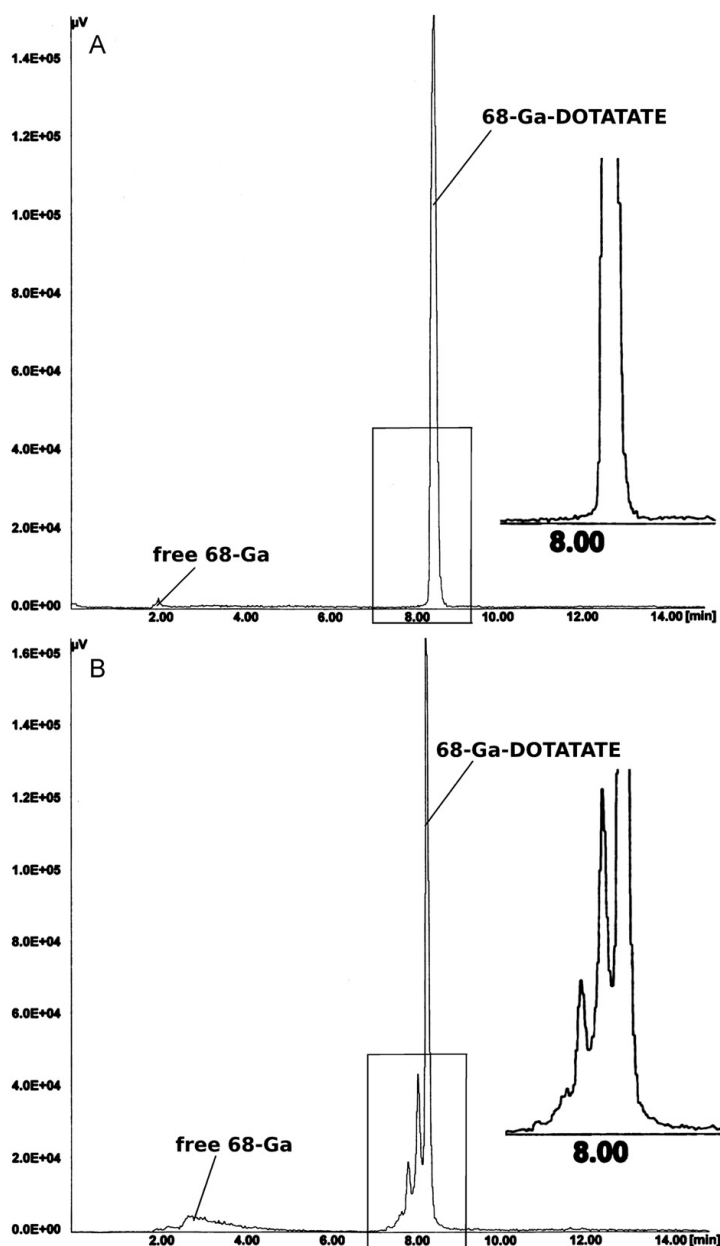


Рисунок 26 – Радио-ВЭЖХ хроматограммы готовых препаратов, полученных по NaCl-технологии (А) и HCl-ацетоновой технологии (В) [80]

В виду отсутствия необходимости использования стадии твёрдофазной экстракции, данный метод подходит для синтеза РФП из гидрофильных прекурсоров [78], однако авторы не приводят никаких данных по эффективности очистки элюата от неизотопных носителей. Также метод осложнён присутствием большого количества «балластных» (но неизбежно необходимых) веществ в готовом препарате – аскорбиновая кислота, хлорид натрия, фосфат натрия – и не позволяет осуществить синтез РФП с максимально возможно высокой объёмной и молярной активностью.

В работе [83] данный метод был реализован на коммерческом автоматизированном модуле (Scintomics GmbH) уже с использованием коммерческого генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  на основе  $\text{SnO}_2$ , элюируемого 1,0 М  $\text{HCl}$  (iThemba) – Рисунок 27.

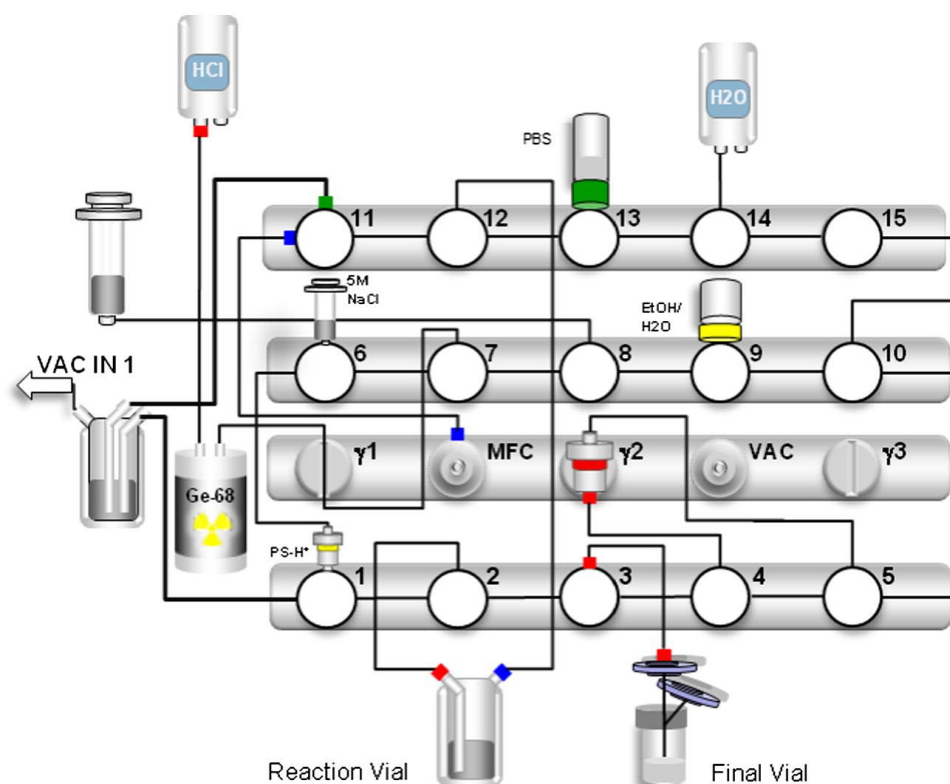


Рисунок 27 – НМИ-схема процесса кондиционирования элюата  $^{68}\text{Ga}$  и синтеза РФП на автоматизированном модуле по  $\text{NaCl}$ -технологии [83]

Авторы нашли, что наилучшие результаты по эффективности выделения  $^{68}\text{Ga}$  могут быть получены на коммерческих катионообменных картриджах Chromafix PS-H<sup>+</sup> (M/430 мг, Macherey-Nagel).

Авторы применили технологию для синтеза РФП на основе различных БХА-конъюгированных пептидов и использовали разнообразные составы раствора для элюирования  $^{68}\text{Ga}$  с катионообменной смолы (Таблица 13).

Таблица 13 – Радиохимический выход (с поправкой на распад) процесса синтеза различных БХА-конъюгированных пептидов при различных составах элюента с использованием катионообменного картриджа Chromafix PS-H<sup>+</sup> M

#	Объем и состав элюента	Пептид и его количество	Выход по <sup>68</sup> Ga, %	РХЧ
1	2 мл, 5 М NaCl (+ 50 μл 30% HCl)	20 μг CPCR4.2	62 ± 6	99 %
2	2 мл, 2,5 М CaCl <sub>2</sub> (+ 50 μл 30% HCl)	20 μг CPCR4.2	49 ± 4	
3	1,2 мл, 5 М NaCl (+ 30 μл 30% HCl)	20 μг CPCR4.2	79 ± 8	
4	1,2 мл, 2,5 М CaCl <sub>2</sub> (+ 30 μл 30% HCl)	20 μг CPCR4.2	67 ± 5	
5	1,2 мл, 5 М NaCl (+ 30 μл 30% HCl)	10 μг CPCR4.2	47 ± 5	
6	1,2 мл, 5 М NaCl	20 μг CPCR4.2	79 ± 7	
7	1,2 мл, 5 М NaCl	20 μг DOTATATE*	82 ± 7	
8	1,2 мл, 2,5 М CaCl <sub>2</sub>	20 μг CPCR4.2	60 ± 4	
9	1,2 мл, 2,5 М CaCl <sub>2</sub>	1 μг TRAP(RGD) <sub>3</sub>	79 ± 4	

\* похожие результаты были получены для DOTANOC

В работе [84] авторы модифицировали метод [75], заменив ацетон этанолом. Суть метода заключается в том, что элюат генератора <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga на основе TiO<sub>2</sub> (ЗАО «Циклотрон», Обнинск) пропускали через колонку с катионообменной смолой, где происходила сорбция <sup>68</sup>Ga. Далее колонку промывали раствором 0,15 М HCl (80 % этанола). Для десорбции <sup>68</sup>Ga использовали раствор 0,9 М HCl (90 % этанола). Полученную этанольно-солянокислую смесь использовали для мечения DOTATOC как напрямую, после разбавления в 3 мл воды, так и с добавлением буфера (ацетат натрия, HEPES и т.п.).

В процессе отработки технологии авторы исследовали различные коммерчески доступные катионообменные смолы (Таблица 14).

Таблица 14 – Распределение <sup>68</sup>Ga по фракциям рабочих растворов, полученных в ходе процесса кондиционирования элюата генератора <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga [84]

#	Состав	Объем	Dowex AG 50W × 8	Dowex AG 50W × 4	Strata-X-C	Varian SCX	Merck SCX
1	0,1М HCl	5 мл	0,13	1,79	5,44	0,02	0,04
2	0,15 М HCl (80 об. % этанола)	1 мл	0,57	2,65	0,05	0,00	0,01
3	0,9 М HCl (90 об. % этанола)	0,4 мл	80,47	87,38	23,90	0,00	0,01
4	4 М HCl	1 мл	17,21	5,48	8,34	98,32	95,94
5	Вода	1 мл	1,65	3,17	5,53	4,48	5,28

Из экспериментальных данных видно, что наилучшие результаты могут быть получены на катионообменных смолах Dowex AG 50W × 8 и AG 50W × 4, тогда как

коммерчески доступные готовые катионообменные картриджи оказались неэффективны.

Авторы нашли, что радиохимический выход процесса по  $^{68}\text{Ga}$  (с поправкой на распад) при использовании в качестве элюента раствор 0,9 М HCl (90 об. % этанола) объёмом 1 мл составляет ~ 95 %. При этом, авторы отмечают, что отказ от стадии промывки может повысить радиохимический выход процесса до 97 %. Что касается радионуклидной примеси  $^{68}\text{Ge}$ , то авторы сообщают о снижении его содержания в конечном растворе примерно в 400 раз.

Как и в работе [75], для определения поведения металлических примесей Fe и Zn и материнского радионуклида  $^{68}\text{Ge}$  в данном процессе авторами был применён метод изотопных индикаторов: процедуру очистки (по вышеизложенному протоколу) выполняли несколько раз на модельных растворах, содержащих радионуклиды  $^{68}\text{Ge}$ ,  $^{59}\text{Fe}$  и  $^{69}\text{Zn}$ . Для определения поведения примеси Ti авторами был использован модельный раствор, содержащий  $\text{Ti}^{4+}$ . Содержание Ti в пробах, полученных на разных стадиях процесса, определяли методом спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (ICP). Результаты модельных экспериментов (Таблица 15) также показывают потенциально достаточно высокую степень очистки элюата от неизотопных носителей

Таблица 15 – Распределение  $^{68}\text{Ga}$  (%) и примесных элементов по фракциям рабочих растворов в результате процесса кондиционирования элюата  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  [84]

Ионит	#	Объём	Состав	$^{68}\text{Ga}^{3+}$	$^{68}\text{Ge}^{4+}$	$^{59}\text{Fe}^{3+}$	$\text{Ti}^{4+}$
<b>Dowex AG 50W × 8</b>	1	5 мл	0,1М HCl	0,13	97,17	11,12	2,85
	2	1 мл	0,15 М HCl (80 об. % этанола)	0,57	2,83	1,99	0,76
	3	1 мл	0,9 М HCl (90 об. % этанола)	94,61	< 0,25	14,09	6,83
	4	1 мл	4 М HCl	15,71	< 0,25	42,28	58,73
	5	1 мл	Вода	0,84	< 0,25	16,96	30,83
<b>Dowex AG 50W × 4</b>	1	5 мл	0,1М HCl	1,79	97,11	39,83	5,23
	2	1 мл	0,15 М HCl (80 об. % этанола)	2,65	2,89	23,08	6,35
	3	1 мл	0,9 М HCl (90 об. % этанола)	95,48	< 0,25	32,56	10,86
	4	1 мл	4 М HCl	2,63	< 0,25	3,17	63,88
	5	1 мл	Вода	1,29	< 0,25	0,28	13,68

Как видно из приведённых данных, на сегодняшний день предложено большое количество самых разнообразных методов для кондиционирования элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  и синтеза РФП на его основе. Все эти методы характеризуются



своими достоинствами и недостатками, и были в той или иной мере успешно использованы различными научно-исследовательскими командами по всему миру.

Чтобы подытожить всё вышеизложенное в данном разделе, стоит сказать, что большое количество подходов к работе с генератором  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  и продолжающаяся разработка новых методов говорят о высоком научном интересе и крайней актуальности этой темы, а неоднозначность экспериментальных данных в отдельных случаях лишь расширяет горизонты для научных изысканий в данной области.

### ***1.9 Автоматизация процессов синтеза РФП на основе $^{68}\text{Ga}$ для повседневной медицинской практики***

При работе с короткоживущими изотопами необходимо учитывать целый ряд ограничений, таких как:

- проведение синтеза за время, совместимое с периодом полураспада радионуклида;
- применение новых стратегий органического синтеза, реализуемых в on-line и on-chip технологиях;
- полная автоматизация процессов синтеза;
- обеспечение защиты персонала при высоких уровнях радиации;
- использование методов экспресс-анализа;
- жесткий временной интервал между синтезом РФП и введением его пациенту.

Кроме того, следует учитывать, что даже при использовании для синтеза РФП генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  (освобождающего от необходимости в циклотроне и горячих камерах), существует ряд сложностей, о которых говорилось ранее, не позволяющих использовать элюат генератора напрямую для синтеза радиофармацевтических препаратов надлежащего качества. Нормы GMP предусматривают поэтапный автоматический контроль процесса синтеза (quality assurance) как основной фактор, гарантирующий качество полученного РФП. Кроме того, для рутинных клинических исследований важным параметром является стабильный и хорошо воспроизводимый радиохимический выход продукта, что также достигается при проведении синтеза в автоматическом режиме [85].

В последние годы происходит настоящий “бум” в автоматизации, основанной на внедрении новых технологий, таких, как использование одноразовых кассет с

реагентами, синтез в микрореакторах и микрочипах, что отражено в ряде обзоров [85,86].

Возрастающая необходимость в клиническом применении РФП с  $^{68}\text{Ga}$  требует перехода от полуавтоматизированных (единичных и, зачастую, самостоятельно изготовленных) систем к полной автоматизации. Радиационная безопасность обладает тут большим значением из-за ядерно-физических характеристик  $^{68}\text{Ga}$  (высокая энергия позитронов), а полностью автоматизированный процесс синтеза, включающий подготовку элюата и не требующий непосредственного участия оператора, определенно ведет к значительному снижению дозовой нагрузки на персонал медицинского учреждения (в первую очередь, руки самого оператора).

Проведение клинических исследований требует хорошо воспроизводимой, стандартизированной и робастной методики, которая значительно легче достигается в полностью валидированном автоматизированном процессе. Полностью автоматизированная и валидированная методика очистки или использование стерильных сменных кассет позволяет лучше контролировать химическую чистоту, а также стерильность и содержание бактериальных эндотоксинов в РФП.

Автоматизация и соответствующее программное обеспечение должно также вносить вклад и в возможность оперативного контроля процесса, что является предельно важным аспектом из-за все возрастающего бремени нормативных требований и стандартов в области РФП. В последние несколько лет тенденции направлены на выполнение текущих национальных норм cGMP в области приготовления всех РФП для ПЭТ. Стандартизированные и полностью валидированные технологии также значительно проще переносить в новые учреждения, что облегчает процесс распространения и увеличение количества пациентов, проходящих клинические обследования.

На сегодняшний день, автоматизированные модули для синтеза РФП можно разделить по своему исполнению на две большие группы: изготовленные с использованием многоразовых коммуникаций и функциональных элементов (tubing-технология) и рассчитанные на использование одноразовых стерильных кассет (кассетная технология). Также модули можно разделить на полностью готовые компактные системы и модульные системы, допускающие вариации в организации процесса синтеза и расширение номенклатуры входящих функциональных узлов.

Все методы кондиционирования элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ , описанные в разделе 1.8, были использованы при разработке автоматизированных систем. Выбор

метода кондиционирования основан на научных соображениях, которые не входят в поле зрения этого раздела и были описаны ранее.

Однако, коммерческие причины часто связаны с сотрудничеством и дополнительными подразделениями исследовательских институтов и компаний, которые приводят к применению одного из подходов кондиционирования.

Направление полностью автоматизированных систем все больше развивается в последние годы с целью преодолеть внутренние ограничения полуавтоматизированных систем. Применение автоматизированных модулей для мечения DOTA-пептидов галлием ( $^{67/68}\text{Ga}$ ), а также для мечения DOTA-пептидов лютецием ( $^{177}\text{Lu}$ ) и иттрием ( $^{90}\text{Y}$ ) для радионуклидной терапии нейроэндокринных опухолей подтолкнуло развитие таких систем несколькими производителями. Прямое сравнение коммерчески доступных модулей находится вне поля зрения данной работы. Тем не менее, следует понимать, что все автоматизированные системы, разрешенные к продаже, обеспечивают безопасный и эффективный синтез РФП с  $^{68}\text{Ga}$ , обеспечивая качество и безопасность, необходимые для их правильного использования.

Для правильного выбора среди доступных версий, следует принимать во внимание использованные в них химические и технологические подходы.

Фракционирование [74] было очень широко использовано, по крайней мере, в первые годы, из-за его простоты, дешевизны и быстроты. Modular-Lab Standard, производимый компанией Eckert&Ziegler (Eckert&Ziegler Eurotope GmbH, Berlin, Germany), позволяет осуществлять полностью автоматизированное производство  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-конъюгированных пептидных соединений, начиная с прямого элюирования генератора, включая процесс синтеза с использованием ТФЭ для очистки продукта, и заканчивая фильтрацией конечного продукта через стерилизующий мембранный фильтр, за общее время около 10 мин (Рисунок 28).



Рисунок 28 – Модуль Modular-Lab Standard (Eckert&Ziegler Eurotope GmbH)

GallElut, производимый компанией Scintomics (Scintomics GmbH, Fuerstenfeldbruck, Germany), позволяет осуществлять полностью автоматизированное производство тех же  $^{68}\text{Ga}$ -ДОТА-конъюгированных пептидных соединений за короткое время. Эта система, основанная на модульной концепции может быть адаптирована к использованию альтернативных методов кондиционирования элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ , таких как анионный и катионный обмен (Рисунок 29).

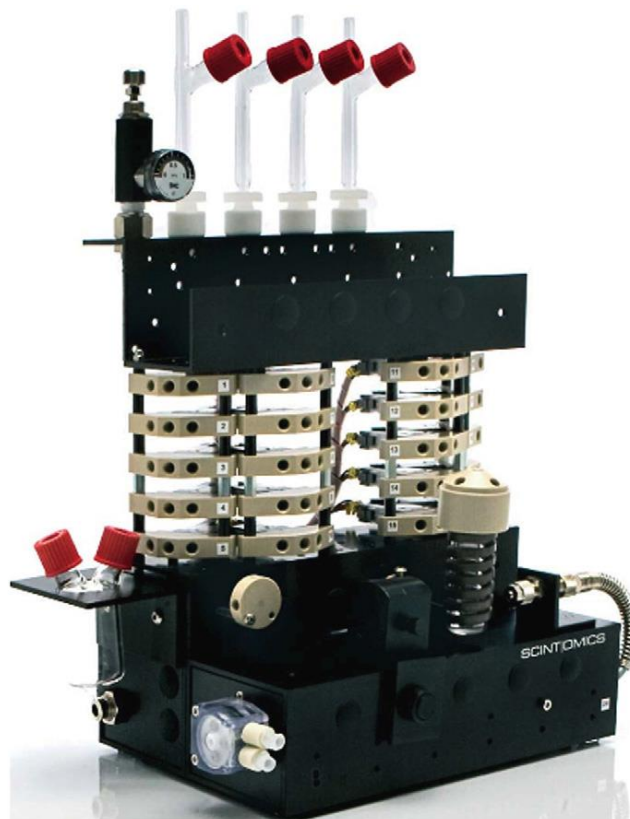


Рисунок 29 – Модуль GallElut (Scintomics GmbH)

Другой вариант исполнения был использован компанией IASON (IASON GmbH, Graz, Austria), когда они представили компактный автономный модуль EluSynthGa68, который позволяет производить фракционирование элюата генератора для мечения DOTA-конъюгированных пептидных соединений (Рисунок 30).



Рисунок 30 – Модуль EluSynthGa68 (IASON GmbH)

Кондиционирование элюата анионным обменом [52,69] также было использовано при разработке полностью автоматизированных систем для синтеза  $^{68}\text{Ga}$ -РФП. Кроме GallElut, еще две компании представили на рынок компактные автономные модули, использующие этот метод: SynChrom Ga68 (Raytest isotope messgerate GmbH, Straubenhardt, Germany) – Рисунок 31, и Galigand компании Veenstra (Veenstra Instrumenten B.V., Joure, Netherlands) – Рисунок 32.



Рисунок 31 – Модуль SynChrom Ga68 (Raytest isotope messgerate GmbH)

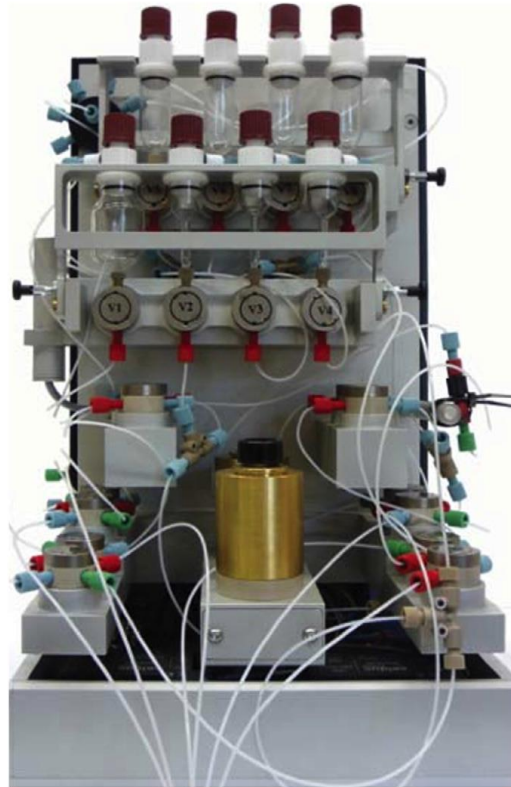


Рисунок 32 – Модуль Galigand (Veenstra Instrumenten B.V.)

Основываясь на концепции катионообменного кондиционирования элюата [75], Eckert&Ziegler предложил усовершенствованный модуль Modular-Lab Standard – Рисунок 33. Он представил собой полностью автоматизированную систему, использующую многоразовую микроколонку с катионитом AG50W-X4. Затем последовала замена AG50W-X4 коммерчески доступным катионообменным картриджем (Strarta-X-C).

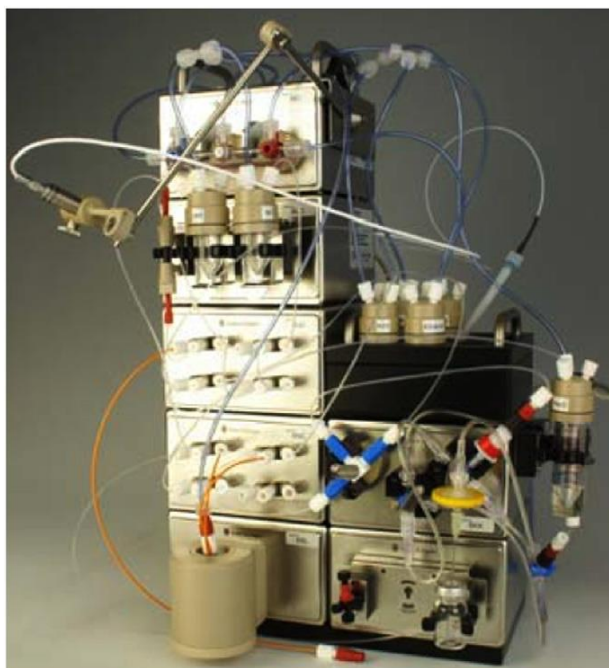


Рисунок 33 – Модуль Modular-Lab Standard X-C (Eckert&Ziegler Eurotope GmbH)

Сменные коммерческие картриджи имеют некоторые преимущества по сравнению с многоразовой смолой, по крайней мере в рутинной клинической практике. Во-первых, должна достигаться улучшенная микробиологическая безопасность с точки зрения стерильности и содержания бактериальных эндотоксинов. Во-вторых, они лучше соответствуют правилам cGMP, а также возможно упрощение процесса очистки системы, а периодического заполнения многоразовой колонки возможно избежать. Неактивные металлические примеси, кроме цинка, конечно удаляются с меньшей эффективностью по сравнению с насыпными катионообменными смолами.

В литературе можно найти разнообразные данные по различиям в конечном радиохимическом выходе всех процессов мечения  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-конъюгированных пептидных соединений между различными методами кондиционирования. Тем не менее, различия в количестве используемого пептида и сильное влияние типа буферного раствора [87], а также параметров инкубирования реакционной смеси, делают процесс сравнения очень трудным.

Также следует принимать в расчет системную инженерию: полностью оборудованные профилированные компактные системы, доступные в настоящее время, представляют собой готовые решения, пригодные для использования в cGMP, но их вариативность весьма ограничена. Повышение вариативности возможно за счет «модульных» систем или систем, основанных на расширенных платформах. «Модульная» технология характеризуется возможностью сборки конфигураций оборудования из различных отдельных «модулей» основных компонентов (клапанов, реакторов и т.п.). С помощью таких систем можно проводить автоматизацию широкого спектра процессов мечения, очистки изотопов, рутинного производства РФП и других радиофармацевтических процессов.

С другой стороны, профилированные системы иногда могут быть проще в использовании, требуя более короткого времени для обучения операторов. По отношению к обслуживанию, модульные системы могут оказаться более простыми в обслуживании и восстановлении, т.к. на замену одного блока нужно сравнительно небольшое время. Важно подчеркнуть важность баланса между необходимостью в гибкости системы и требованиями законодательства, как в промышленном, так и в медицинском производстве.

Различные химические подходы, доступность большого количества РФП для ПЭТ для научных разработок и клинических исследований, а также ограниченное



количество инвестиций для производственного оборудования, требуют большой гибкости. С другой стороны, требования к производству небольших количеств РФП непосредственно в медицинском учреждении опираются на анализ рисков, основанный на планах валидаций, квалификационных/валидационных протоколах, валидированных процессах уборки, полной документации и абсолютной отслеживаемости всех манипуляций. Это комплексное регулирование уменьшает возможность применения большого количества синтезов и использование разных радионуклидов, таким образом, ограничивая внутреннюю гибкость процесса.

Так как законодательство (cGMP или национальная Фармакопея) постепенно становятся обязательными для приготовления РФП во всё большем количестве стран, настоящие тенденции в проектировании автоматизированных систем идет от tubing-технологии, которая характеризуется большим разнообразием модулей синтеза (не только для галлия, но и для углерода и фтора), к новому поколению оборудования, основанному на «сменных стерильных кассетах».

Как правило, одноразовые кассеты, собираются в условиях GMP и стерилизуются гамма-облучением. Все расходные материалы, используемые при сборке кассет должны быть химически стойкими, протестированными и утвержденными для каждого конкретного синтеза. Благодаря тому, что кассеты одноразовые, никаких процедур их очистки и регенерации не требуется. Валидации процедур очистки и регенерации также не требуется. Использование стерильных кассет определенно приводит к лучшему контролю стерильности и содержания бактериальных эндотоксинов в РФП. Более того, замена кассеты позволяет производить несколько разных синтезов с несколькими разными радионуклидами в течение одного дня. Это особенно важно для подразделений, использующих аналоги соматостатина, меченные галлием для диагностики и терапии нейроэндокринных опухолей. Возможность для радиофармацевта производить мечение одних и тех же соединений как диагностическими, так и терапевтическими радионуклидами, такими как лютеций и иттрий, позволяет проводить всесторонне обслуживание пациентов.

Так как необходимость в  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-конъюгированных пептидных соединениях значительно ниже, чем в общепринятых широко применяемых соединениях, таких как ФДГ, высокая стоимость кассет может оказаться значительным недостатком по сравнению с системой на основе tubing-технологии. Полная зависимость от производителя кассет также должна приниматься в расчет. Необходимы



оптимизированные и полностью отвалидированные кассеты для разных РФП для того, чтобы увеличить гибкость систем, а разработка новых кассет полностью лежит на коммерческих соображениях производителя.

Высокое качество используемых материалов для сборки кассет обязательно, как и строгий контроль качества процесса сборки. Коммерчески доступные сменные медицинские приспособления (трубки, запорные вентили, наборы для внутривенного введения) часто используются для сборки кассет. Поскольку это гарантирует стабильную доступность компонентов, применимость их в конкретном радиохимическом устройстве не подтверждена, что иногда ведет к сбоям (протечкам, образованию пузырьков и т.п.). Особое внимание следует уделить оценке составных частей и соединений, во избежание сбоев, а также обеспечению модуля соответствующим программным обеспечением. Несмотря на все эти потенциально негативные аспекты, из-за все возрастающего количества процедур с РФП простоты их использования, существует сильная тенденция к автоматизации с использованием этих типов систем, а также все большее количество кассет появляется на рынке.

EZAG Modular-Lab PharmTracer был специально разработан для многофункционального и эффективного рутинного производства различных РФП, помогающего избегать перекрестного загрязнения и соответствовать требованиям GMP. Modular-Lab PharmTracer основан на модульном подходе в сочетании с быстротой и безопасностью полностью автоматизированной системы с возможностью формировать синтезы новых РФП, а также рутинно производить  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA,  $^{111}\text{In}$ -DOTA,  $^{177}\text{Lu}$ -DOTA и  $^{90}\text{Y}$ -DOTA конъюгированных РФП (Рисунок 34). Систему также можно комбинировать с аналитическими ВЭЖХ и ТСХ.



Рисунок 34 – Модуль Modular-Lab PharmTracer (Eckert&Ziegler Eurotope GmbH)

Платформа Scintomics GRP (Good Radiopharmaceutical Practice) была разработана с целью сочетать функциональность и эстетику с требованиями GMP\сGMP в одной системе, специально разработанной для радиофармацевтического синтеза (Рисунок 35).



Рисунок 35 – Модуль Scintomics GRP (Scintomics GmbH)

Преимущество этой системы основано на концепции «универсальной» модульной системы для синтеза РФП с фтором, углеродом и галлием.

Инновационная система «soft-lock» позволяет пользователю присоединять коммуникации быстро и точно, без специальной установочной системы. Кассеты для  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-конъюгированных пептидных соединений и для большинства соответствующих РФП для ПЭТ уже доступны и распространяются с полной документацией по GMP.

### ***Выводы из обзора литературных данных***

Вышеизложенный материал позволяет заключить, что на сегодняшний день разработка радиофармацевтических препаратов на основе  $^{68}\text{Ga}$  для диагностики разного рода заболеваний является крайне актуальной задачей, и возрастающая необходимость в клиническом применении РФП с  $^{68}\text{Ga}$  в условиях жёстких нормативных требований как к качеству самих РФП, так и к методам их синтеза, говорят о необходимости создания простых, но эффективных технологий для рутинного синтеза этих РФП. Описанные исследования говорят о том, что для успешного синтеза РФП на основе  $^{68}\text{Ga}$  из БХА-конъюгированных прекурсоров

необходимо учитывать, в первую очередь, влияние примесей металлов в элюате. Чем большую величину молярной активности и эффективности реакции мечения необходимо получить, тем меньшее содержание неизотопных носителей (особенно железа, меди, цинка и свинца) должно быть в реакционной смеси. Таким образом, универсальное применение некондиционированного элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  непосредственно для синтеза РФП высокого качества невозможно, и ключевым этапом в процессе синтеза РФП становится использование методов эффективной очистки и концентрирования элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ . Технология кондиционирования элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  должна с высокой воспроизводимостью и в как можно более короткие сроки позволять получать концентрированный раствор  $^{68}\text{Ga}$  с минимальным присутствием неизотопных носителей в удобной для медицинского применения форме, без использования в процессе агрессивных и токсичных химических веществ. Технология должна позволять проведение полного процесса синтеза РФП на основе  $^{68}\text{Ga}$  из БХА-конъюгированных прекурсоров в автоматизированном режиме и быть максимально удобной для реализации в условиях повседневной медицинской практики.

Задача по поиску и разработке подобной технологии и была поставлена в ходе настоящей работы. С учетом уже опубликованных сведений к моменту начала работы, представлялось целесообразным использовать совместно очистку на катионите и анионите (по возможности, промышленно выпускаемые сорбенты или готовые картриджи). При этом исключить использование концентрированных растворов кислот и токсичных растворителей.

## Глава 2. Методическая часть

### *Химикаты и реагенты*

В работе использовали деионизованную воду 18,2 МОм × см (ТКА Smart2Pure или Milli-Q Millipore).

Все использованные в работе реактивы относились к классу «особо чистых», или фармацевтического качества, в частности: соляная кислота 0.1 М Titripur, 30% Suprapur (Merck Millipore) и 35% Hyperpure (Panreac); ацетон ос.ч. 9-5 (ООО «Химмед синтез», Россия); спирт этиловый медицинский 95% (Ферейн, Россия); ацетат натрия 3-х водный GMP-grade (Panreac) и extra-pure (Merck Millipore).

Ионообменные смолы Dowex 50W×8, ×2 (H<sup>+</sup>-форма, 200-400 mesh), Dowex 1×8, ×4, ×2 (Cl<sup>-</sup>-форма, 200-400 mesh) предоставлены Sigma-Aldrich; Chromalite CGC50X2 (H<sup>+</sup>-форма, 200-400 mesh) и Chromalite CGA50X2 (Cl<sup>-</sup>-форма, 200-400 mesh) предоставлены Purolite (Великобритания). Все ионообменные смолы предварительно были отмыты и высушены [88].

Коммерчески доступные одноразовые ионообменные картриджи Strata-X-C и Strata-X-A (30 мг) предоставлены Phenomenex; Oasis WCX, WAX 6cc 30 мг предоставлены Waters; Chromafix HR-XC (S, 155 мг), Chromafix HR-XA (S, 155 мг) предоставлены Macherey-Nagel.

Прекурсоры радиофармацевтических препаратов:

1,4,7,10-тетраазациклодекан-1,4,7,10-тетрауксусная кислота (DOTA) конъюгированная с D-Phe<sup>1</sup>-Tyr<sup>3</sup>-октреотидом (DOTA-ТОС, GMP-grade), с D-Phe<sup>1</sup>-Tyr<sup>3</sup>-октреотатом (DOTA-TATE, GMP-grade); диэтилтриаминпентауксусная кислота (ДТРА) конъюгированная с D-Phe<sup>1</sup>-Tyr<sup>3</sup>-октреотидом (ДТРА-ТОС); производное 1,4,7-триазациклононан-1,4,7-триуксусной кислоты (NOTA) конъюгированное с цикло-RGD (NODAGA-RGD, GMP-grade) предоставлены ABX Chemicals; DOTA конъюгированная с Lys- $\alpha$ -октреотидом и Lys- $\omega$ -октреотидом [89] предоставлены ЗАО «Синтез Пептидов». (Москва, Россия).

### *Генератор <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga*

В работе использовали несколько отечественных генераторов <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga на основе TiO<sub>2</sub>, модифицированного 4 % ZrO<sub>2</sub>, – «Термоксид-50» – в качестве твёрдой фазы, с адсорбированным на ней <sup>68</sup>Ge<sup>IV</sup>, производства ЗАО «Циклотрон» (Обнинск, Россия) различного срока эксплуатации и различной номинальной активности: 1850

МБк (03.02.2014), 3700 МБк (11.03.2013), 740 МБк (03.10.2012), 740 МБк (17.10.2011), 760 МБк (15.09.2010) и 1850 МБк (17.06.2009).

### **Измерение активности $^{68}\text{Ga}$**

Абсолютную активность  $^{68}\text{Ga}$  в образцах и растворах измеряли на радиометре РИС-А1 «Дозкалибратор» (НТЦ «Амплитуда», Россия) и Atomlab™ 500 Dose Calibrator (Biodex, США).

Относительную активность (скорость счёта) полученных образцов измеряли на радиометре RFT 20046, (Veb Robotron-Messelektronik, Dresden GmbH), а также с помощью автоматического  $\gamma$ -счетчика Wizard 2480 (PerkinElmer, США).

### **Коэффициент распределения**

Равновесный массовый коэффициент распределения  $D_g$  определяли статическим методом [90]. Точную навеску сухой, заранее промытой ионообменной смолы вносили в раствор с заданной концентрацией HCl и об. % органического растворителя (ацетона или этанола), в который предварительно была внесена аликвота элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  (~10 мкл). Для проведения реакции использовали пробирки Eppendorf объёмом 5 мл. Образцы помещали на 5 мин на механическую мешалку с термостатируемым режимом Bioer Mixing block MB-102 (Bioer, Китай) при 20° С с частотой перемешивания 1350 об/мин. По истечении времени контакта фаз пробирки помещали в центрифугу (Heidolph, Германия) и центрифугировали в течение 1 мин с частотой 15000 об./мин, затем отбирали аликвоту раствора и измеряли скорость счёта.

Равновесный массовый коэффициент распределения рассчитывали по формуле:

$$D_g = \frac{A_0 - A}{A} \times \frac{V(\text{мл})}{m(\text{г})} \quad (1),$$

где  $A_0$  – скорость счёта аликвоты раствора до контакта со смолой;  $A$  – скорость счёта аликвоты раствора после контакта со смолой;  $V$  – объём раствора, мл (5 мл);  $m$  – масса сухой смолы, г (0,1 г). Величина  $A_0$  не требует поправки на набухание смолы из-за большого значения отношения *объём раствора/масса смолы*.

### **Эксперименты в динамических условиях**

Для исследований ионообменного поведения  $^{68}\text{Ga}$  в динамических условиях использовали хроматографические колонки PEEK 50 × Ø2,1 и 100 × Ø2,1 мм (VICI Jour®),

Швейцария) с фриттами из титана или полиэтилена, а также готовые пустые полипропиленовые картриджи объёмом 1 мл ( $\varnothing \sim 8,1$  мм) с полиэтиленовыми фриттами (Supelco). Перемещение рабочих растворов осуществляли шприцами (2 мл 5 мл BBraun Injekt и 10 мл BBraun Omnifix Luer-lock) вручную или посредством шприцевого насоса NE-501 OEM (New Era Pump Systems, Inc).

### ***Количественное определение металлов***

Количественное определение металлов в рабочих растворах проводили на масс-спектрометре с индуктивно-связанной плазмой Elan-6100 (Perkin Elmer, США) и атомно-эмиссионном спектрометре с индуктивно-связанной плазмой Optima-4300 DV (Perkin Elmer, США).

### ***Синтез РФП***

Для проведения реакции мечения БХА-конъюгированных пептидов использовали пробирки Eppendorf (1,5 мл) в случае растворов прекурсоров и стеклянные флаконы (5 мл) в случае лиофилизатов. Лيوфилизаты прекурсоров были разработаны с таким учётом, чтобы необходимое значение pH достигалось добавлением 1 мл 0,1 М HCl (элюат генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  – раствор  $^{68}\text{Ga}(\text{III})$  в 0,1 М HCl). Для всех прекурсоров в качестве буферного агента, создающего необходимое значение pH, был выбран ацетат натрия [87]. В случае растворов прекурсоров в пробирку Eppendorf (1,5 мл), содержащую определённое количество БХА-конъюгированного пептида (обычно 20  $\mu\text{g}$ ) вносили необходимые количества раствора  $^{68}\text{Ga}(\text{III})$  в 0,1 М HCl и 0,2 М водного раствора ацетата натрия, создавая оптимальное для каждого прекурсора значение pH (из общего объёма реакционной смеси в 1 мл). В каждом случае реакционную смесь термостатировали при температуре 95°C в течение 10 мин. Для нагрева пробирок Eppendorf использовали Mixing Block MB-102 (Bioer, Китай), а для флаконов – Multi-Blok Heater 2091 (Lab-Line Instruments Inc., CIF).

### ***Определение радиохимической чистоты РФП***

– ТСХ

Радиохимическую чистоту получаемого препарата (выход реакции мечения) определяли методом быстрой тонкослойной хроматографии на пластинах ITLC-SG (Pall Corporation) с различными элюентами:

*Метод 1:* элюент – 0,05 М водный раствор  $\text{H}_3\text{Cit}$ ; в этой системе несвязанный с пептидом  $^{68}\text{Ga}$  (свободный) продвигается с фронтом растворителя, а комплекс  $^{68}\text{Ga}$  с пептидом остается на старте:

$$R_{f \text{ } ^{68}\text{Ga-свободный}} = 0,8 - 1,0 \quad R_{f \text{ } ^{68}\text{Ga-пептид}} = 0,0 - 0,2$$

*Метод 2:* элюент – 1 М водный раствор  $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ /метанол (1:2); в данном случае меченый пептид и несвязанный  $^{68}\text{Ga}$  продвигаются с фронтом растворителя, а на старте остается гидролизованный  $^{68}\text{Ga}$

$$R_{f \text{ } ^{68}\text{Ga-пептид}} = 0,8 - 1,0 \quad R_{f \text{ } ^{68}\text{Ga-коллоид}} = 0,0 - 0,2$$

Распределение активности по хроматографической полоске устанавливали посредством сканера радиохроматограмм Mini-Scan (Bioscan) или PET-MiniGita (Raytest), а также прямой радиометрией на радиометре RFT 20046, (Veb Robotron-Messelektronik, Dresden GmbH).

В ходе одного из этапов данной работы была разработана, утверждена и аттестована «Методика измерений радиохимической чистоты радиофармацевтических препаратов на основе  $^{68}\text{Ga}$ » МУК 4.3. 012-2012 (Свидетельство об аттестации методики радиационного контроля №40090.0П058 ВНИИФТРИ) – Приложение Г.

– ВЭЖХ

Измерение радиохимической чистоты полученных РФП методом ВЭЖХ проводили на жидкостном хроматографе Knauer Smartline. Использовали колонку C18 4,6 мм × 150 мм, 5 мкм (YMC-Triart, Japan). Хроматографирование осуществляли в градиентном режиме: элюент «А»: ацетонитил (HPLC-grade, Panreac); «В»: 0.1% водный раствор трифторуксусной кислоты (Sigma-Aldrich); градиент 80 – 65% «В» в течение 10 мин. Температура 40°C. Скорость потока 1,0 мл/мин. Детектор: UV 220 нм и радиометрический (Berthold).

### ***Остаточные органические растворители***

Содержание ацетона и этанола в готовых РФП определяли газовой хроматографией на хроматографе GC-2010 Plus (Shimadzu) с пламенно-ионизационным детектором. Использовали капиллярную колонку SGE BPX-Vol (l 30 м, Ø 0,32 мм, 1,8 мкм; SGE Analytical Science) и гелий в качестве газа-носителя (поток – 10 мл/мин, сплит 1:10)

### ***Стерильность и бактериальные эндотоксины***

Количественное определение бактериальных эндотоксинов осуществляли с использованием ЛАЛ-теста в соответствии с ОФС 42-0062-07 «Бактериальные эндотоксины» Фармакопеи РФ XII. Тест на стерильность проводили прямым посевом образцов на питательные среды в соответствии с ОФС 42-0066-07 «Стерильность» Фармакопеи РФ XII.

### ***ЯМР-спектроскопия***

Для получения ЯМР-спектров использовался ЯМР-спектрометр Bruker Advance II 300 и стандартные тонкостенные ампулы из стеклянной трубки диаметром 5 мм, наполненные 0,6 мл исследуемых растворов. Исследовали резонанс по ядрам  $^{71}\text{Ga}$ . Концентрация галлия в образцах составляла 0,02 М. Для сравнения использовали ЯМР-спектр раствора  $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3$  в  $\text{D}_2\text{O}$  с концентрацией 0,1 М.

### ***XANES/EXAFS-спектроскопия***

Рентгеноабсорбционные спектры XANES/EXAFS на К-крае галлия были измерены на станции «Структурное материаловедение» Курчатовского источника синхротронного излучения (НИЦ «Курчатовский институт», Москва) [91,92]. Спектры были получены в режиме регистрации выхода рентгеновской флуоресценции. В качестве флуоресцентного детектора использовался Si-лавинный фотодиод, мониторинг интенсивности падающего излучения осуществлялось с помощью ионизационной камеры. Исследуемый раствор для измерения помещали в пробирку Eppendorf (1,5 мл). Для каждого образца были измерены и усреднены 3-6 независимых прогонов. В среднем время отдельного измерения составляло около 3 часов для спектра EXAFS и 10-15 минут для спектра XANES. Для калибровки энергетической шкалы использовался спектр фольги металлического галлия; положение максимума производной коэффициента поглощения по энергии в нем принимали равным  $E_0=10367$  эВ. Обработку спектров проводили с использованием пакета программ IFEFFIT [93], в количественном анализе спектров EXAFS использовали теоретические амплитуды и фазы рассеяния фотоэлектрона для однократных путей рассеяния Ga-O и Ga-Cl, рассчитанные в программе FEFF [94]. Для расчета теоретических спектров XANES структурных моделей сольватированных комплексов  $\text{Ga}^{3+}$  использовали полнопотенциальный метод конечных разностей, реализованный в программе FDMNES [95]. Для оценки электростатических зарядов на атомах использовали DFT-



программу FireFly [96]. Расчеты проводили на многоцелевом вычислительном комплексе НИЦ «Курчатовский институт».

### Глава 3. Изучение ионообменного поведения $^{68}\text{Ga}$ в статических условиях

#### 3.1 Выбор оптимального времени контакта фаз

Для определения оптимального и достаточного времени контакта фаз при изучении ионного обмена  $^{68}\text{Ga}$  в статических условиях были проведены серии экспериментов по изучению зависимости степени извлечения  $^{68}\text{Ga}$  ионообменными смолами в среде соляной кислоты от времени контакта фаз – Рисунок 36.

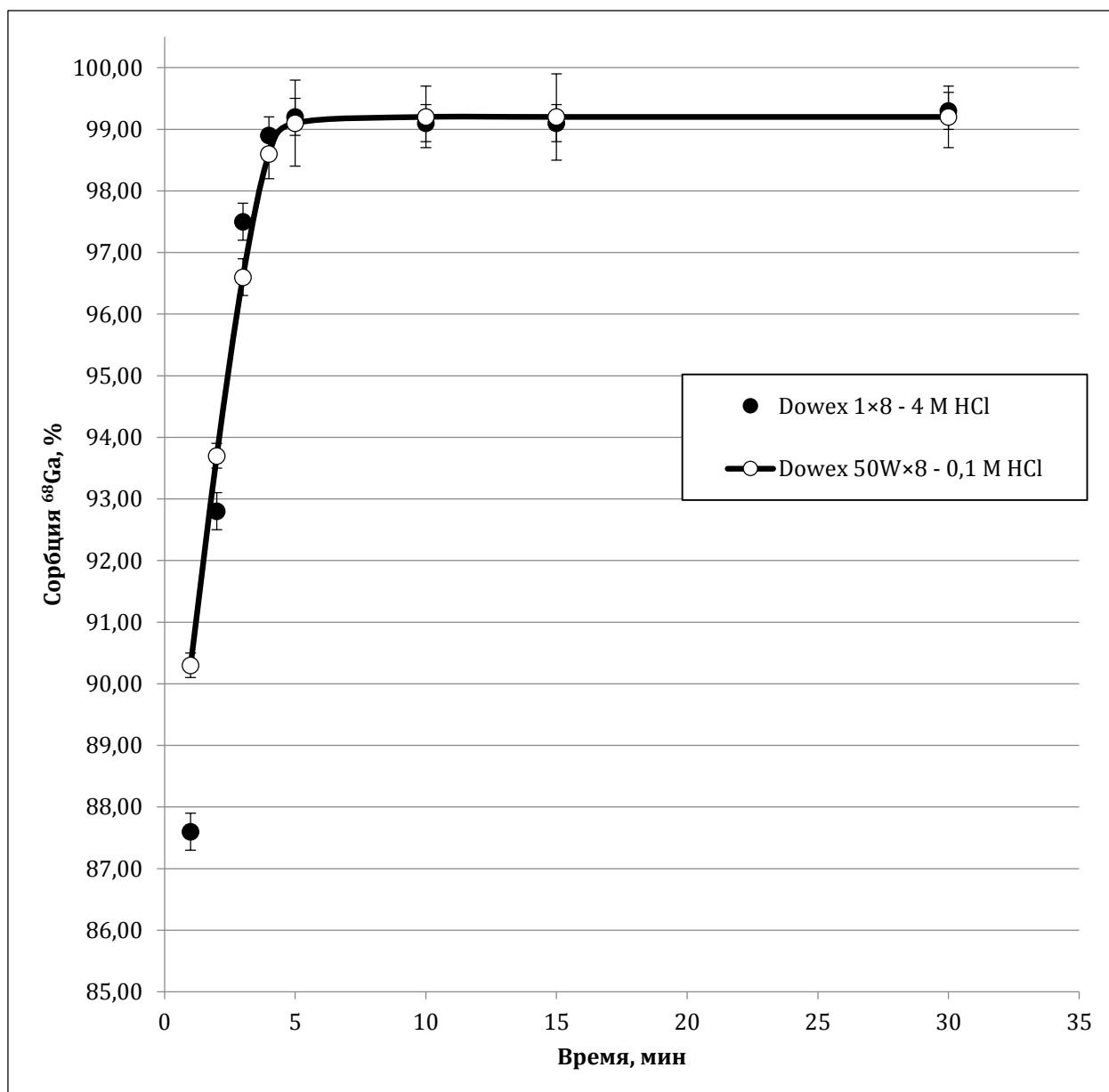


Рисунок 36 – Зависимость сорбции  $^{68}\text{Ga}$  на ионообменных смолах от времени контакта фаз

Экспериментальные данные показывают, что достаточное время контакта фаз, за которое происходит максимально возможная сорбция  $^{68}\text{Ga}$  ионообменными смолами (~ 99 %), составляет 5 мин. Дальнейшее увеличение времени контакта фаз

не приводит к статистически значимому увеличению степени извлечения, и кривая зависимости выходит на плато.

### 3.2 Ионнообменное поведение $^{68}\text{Ga}$ в среде соляная кислота – ацетон в статических условиях

Значения коэффициентов  $D_g^{cat}$  были получены для сорбции  $^{68}\text{Ga}$  на сильнокислотном катионите Dowex AG 50W×8 в  $\text{H}^+$ -форме (Рисунок 37, Приложение А: Таблица 1) и  $D_g^{an}$  – на сильноосновном анионите Dowex AG 1×8 в  $\text{Cl}^-$ -форме (Рисунок 38, Приложение А: Таблица 2) в диапазоне концентраций  $\text{HCl}$  от 0,1 до 3 моль/л и объёмного содержания ацетона от 0 до 90 %.

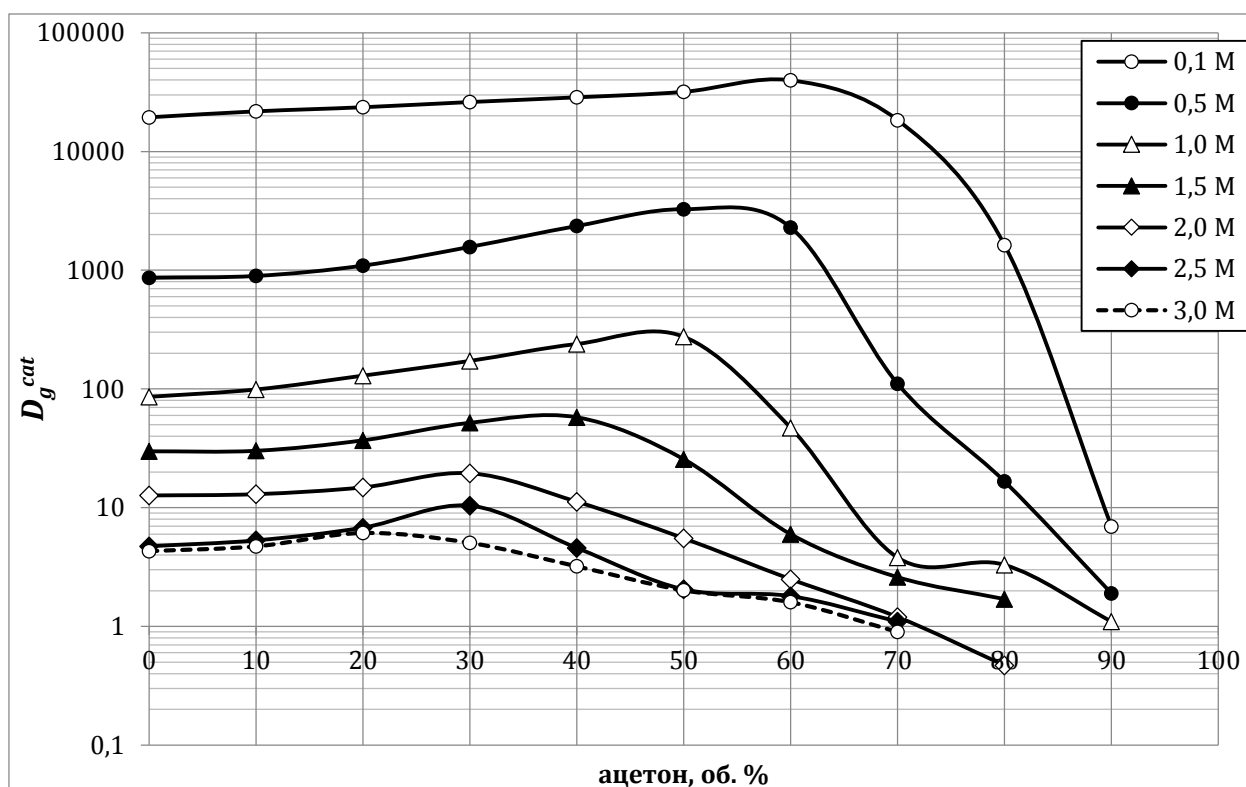


Рисунок 37 – Изменение коэффициента распределения  $^{68}\text{Ga}$  ( $D_g^{cat}$ ) при изменении объёмного содержания ацетона для различных концентраций  $\text{HCl}$  на катионите Dowex AG 50W×8

При сорбции на катионите  $D_g^{cat}$  уменьшается с ростом концентрации  $\text{HCl}$ . Этот эффект не является неожиданным и согласуется с данными ряда опубликованных исследований [72,97,98] по изучению ионного обмена галлия в среде соляной кислоты.

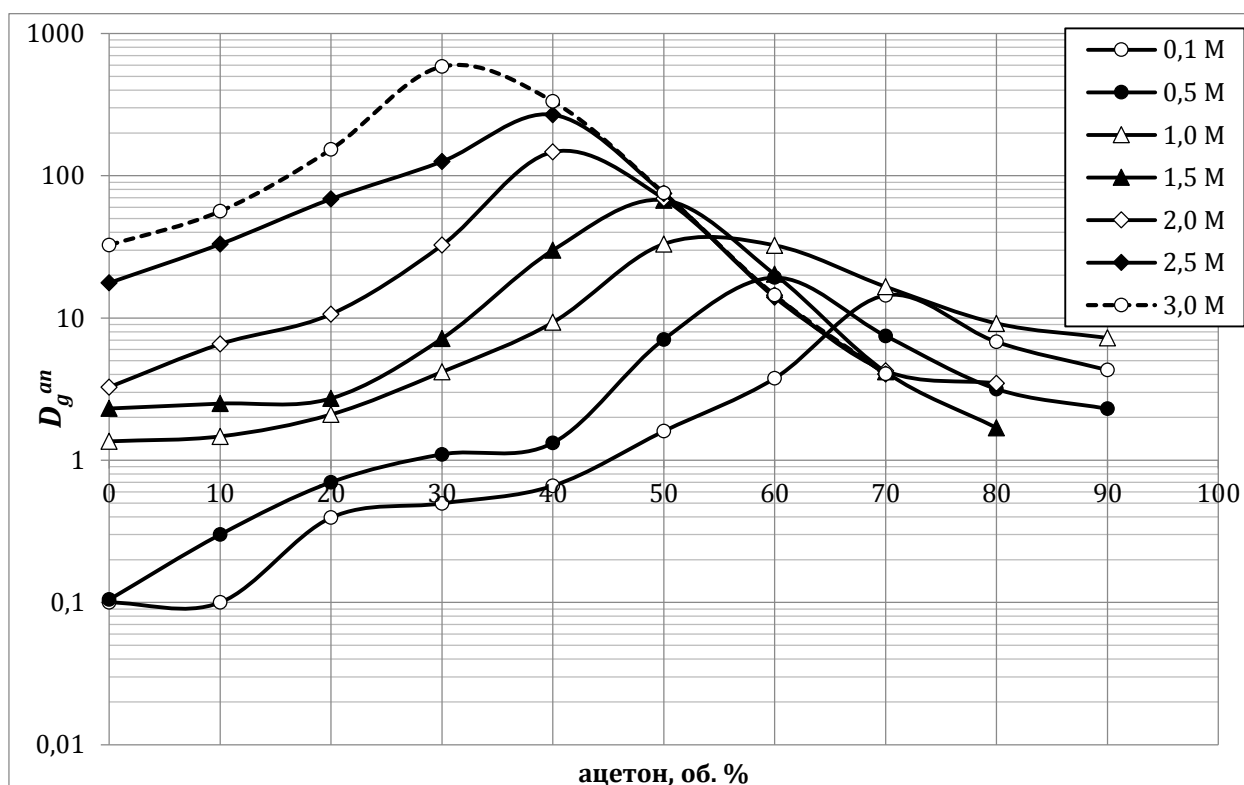


Рисунок 38 – Изменение коэффициента распределения  $^{68}\text{Ga}$  ( $D_g^{an}$ ) при изменении объёмного содержания ацетона для различных концентраций HCl на анионите Dowex AG 1×8

Из экспериментальных данных (Рисунок 37) видно, что для катионного обмена  $^{68}\text{Ga}$  характерно наличие выраженного максимума  $D_g^{cat}$  при изменении объёмного содержания ацетона для каждой концентрации кислоты.  $D_g^{cat}$  растёт вместе с ростом концентрации ацетона в растворе до определённого момента, когда гидратное поле вокруг катиона не будет ослаблено настолько, чтобы позволить хлорид-анионам заменить диполи воды в координационной сфере катиона, что приводит к падению коэффициента распределения. Иными словами, ацетон заменяет молекулы воды в сольватной оболочке галлия – так называемая пересольватация. Данный максимум с ростом концентрации кислоты смещается в область более низкого содержания ацетона. То есть, чем выше кислотность среды (а в нашем случае, и выше концентрация хлорид-анионов в растворе), тем быстрее ослабляется гидратное поле вокруг катиона и наступает пересольватация. Первоначальный же рост коэффициента распределения вместе с ростом объёмного содержания ацетона, можно объяснить тем, что до определённого момента, пока не наступила пересольватация, ацетон ослабляет гидратное поле катиона галлия, облегчая диффузию катиона к поверхности ионита и образование кулоновских взаимодействий.

Механизмом смещения равновесия в сторону анионных комплексов – хлоргаллатов – объясняется и рост  $D_g^{an}$  с ростом концентрации кислоты.

Из экспериментальных данных (Рисунок 38 и Рисунок 39) видно, что наличие максимума коэффициента распределения  $D_g^{an}$  характерно и для сорбции галлия на анионите. С ростом кислотности максимум  $D_g^{an}$  также смещается в область более низкого содержания ацетона. Примечательно, что максимумы коэффициентов  $D_g^{cat}$  и  $D_g^{an}$  при одной и той же концентрации HCl не совпадают, но находятся очень близко (разница составляет ~ 10 об. % ацетона).

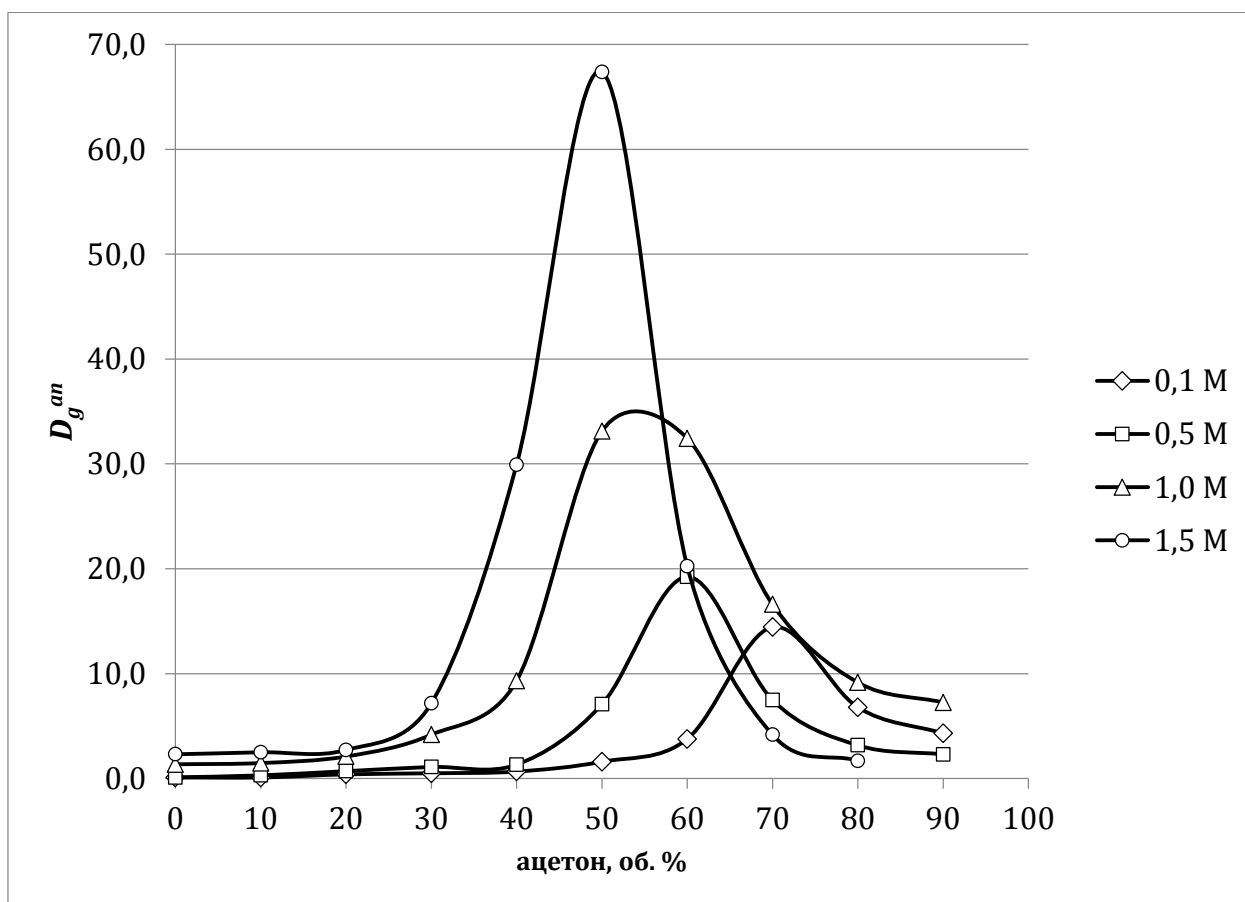


Рисунок 39 – Изменение коэффициента распределения  $^{68}\text{Ga}$  ( $D_g^{an}$ ) при изменении объёмного содержания ацетона для различных концентраций HCl на анионите Dowex AG 1×8

Также стоит отметить, что полученные нами коэффициенты распределения в ряде случаев отличаются (больше) от опубликованных (пусть и немногочисленных) данных – Таблица 16 и Таблица 17.

Таблица 16 – Сравнение полученных в разных исследованиях коэффициентов распределения Ga на катионите Dowex 50W×8 в среде соляная кислота – ацетон

С <sub>нсi</sub> , моль/л	об. % ацетона					
	0	20	40	60	80	90
0,6 <sup>†</sup>	242	280	10 <sup>3</sup>	27	< 1	< 1
0,6 <sup>‡</sup>	494	644	1169	1446	12,14	1,78

† – [99];

‡ – настоящее исследование;

Таблица 17 – Сравнение полученных в разных исследованиях коэффициентов распределения Ga на катионите Dowex 50W×8 в среде соляная кислота – ацетон

С <sub>нсi</sub> , моль/л	об. % ацетона											
	0		20		40		60		80		90	
	†	‡	†	‡	†	‡	†	‡	†	‡	†	‡
0,2	3040	14820	>10 <sup>4</sup>	15920	>10 <sup>4</sup>	21399	>10 <sup>4</sup>	38040	22,9	172	5,3	5,31
0,5	245	863	1110	1093	1770	2357	168	2291	7,2	16,63	1,9	1,93
1,0	42,6	85,83	115	129	165	239	5,5	47,09	3,3	3,31	1,1	1,1
2,0	7,8	12,68	11,0	14,83	3,4	11,23	<0,5	2,5	<0,5	–		

† – [100];

‡ – настоящее исследование;

**Более подробное рассмотрение и объяснение наблюдаемых в статических условиях эффектов и зависимостей изменения коэффициентов распределения будут приведены ниже** (см. раздел 3.3).

Результаты исследований в статических условиях позволяют заключить, что:

1. <sup>68</sup>Ga сорбируется количественно на катионите из 0,1 М HCl, при этом в диапазоне концентраций HCl от 0,1 до 1 М можно подобрать условия (растворы), позволяющие осуществить промывку катионита (элюирование со смолы других сорбированных элементов) без десорбции галлия;
2. осуществить десорбцию <sup>68</sup>Ga с катионита можно также уже при крайне низких концентрациях HCl, но высоком объёмном содержании ацетона (более 90 об. % для 0,1 М соляной кислоты);
3. присутствие ацетона позволяет достигнуть значительных коэффициентов распределения галлия на анионите при достаточно низких концентрациях HCl, начиная с 2 М (для чистой HCl эффективная сорбция галлия достигается при концентрациях более 5 М);
4. эффективная десорбции <sup>68</sup>Ga с катионита с последующей сорбцией на анионите наблюдается при использовании растворов HCl от 2 до 3 М (для

рассматриваемого в данном исследовании диапазона концентраций) при объёмном содержании ацетона от 30 до 50 об. %;

- использование для десорбции галлия с катионита с последующей сорбцией на анионите растворов HCl с концентрацией менее 5 М позволяет избежать необратимых потерь галлия на катионите за счёт необменной сорбции.

### 3.3 Ионнообменное поведение $^{68}\text{Ga}$ в среде соляная кислота – этанол в статических условиях

Значения коэффициентов  $D_g^{cat}$  были получены для сорбции  $^{68}\text{Ga}$  на сильнокислотном катионите Dowex 50W × 8 в H<sup>+</sup>-форме (Рисунок 40, Приложение А: Таблица 3) и  $D_g^{an}$  на сильноосновном анионите Dowex 1 × 8 в Cl<sup>-</sup>-форме (Рисунок 41, Приложение А: Таблица 4) в диапазоне концентраций HCl от 0,1 до 3 моль/л и объёмного содержания этанола от 0 до 90 %.

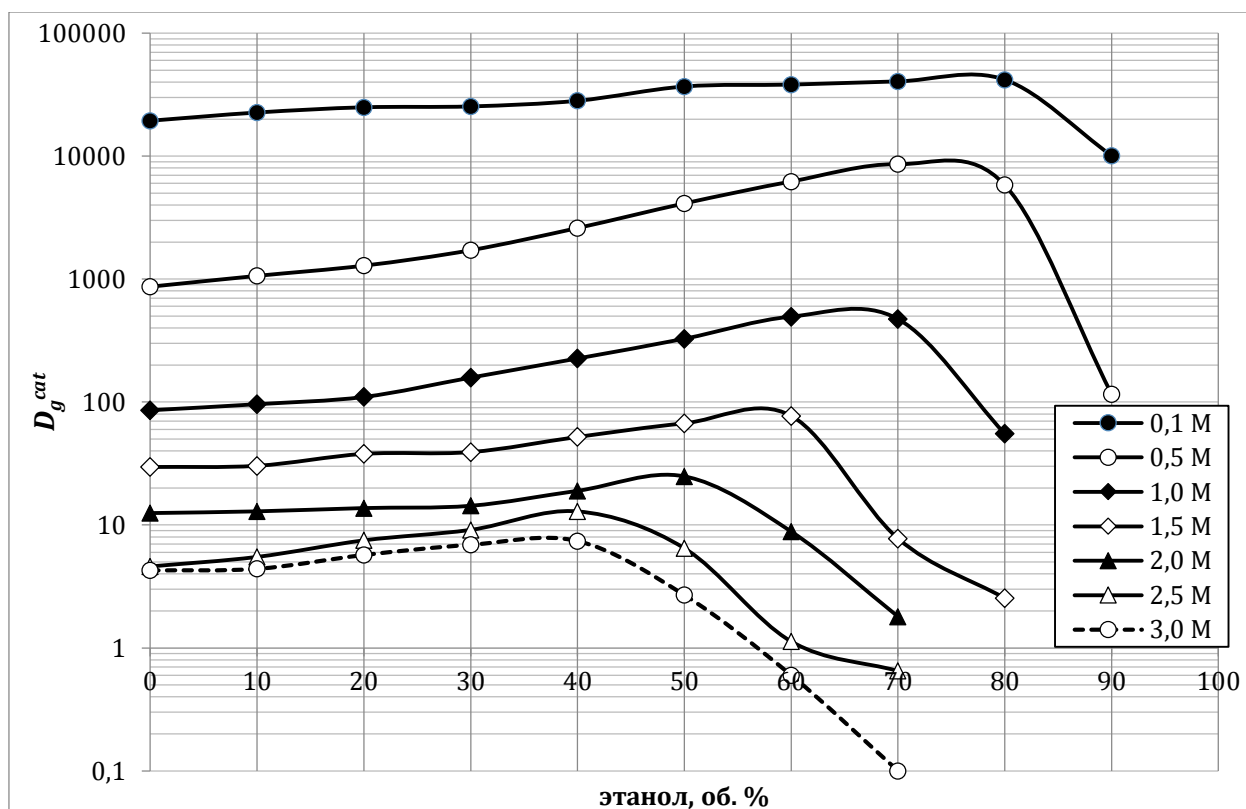


Рисунок 40 – Изменение коэффициента распределения  $^{68}\text{Ga}$  ( $D_g^{cat}$ ) при изменении объёмного содержания этанола для различных концентраций HCl на катионите Dowex 50W×8

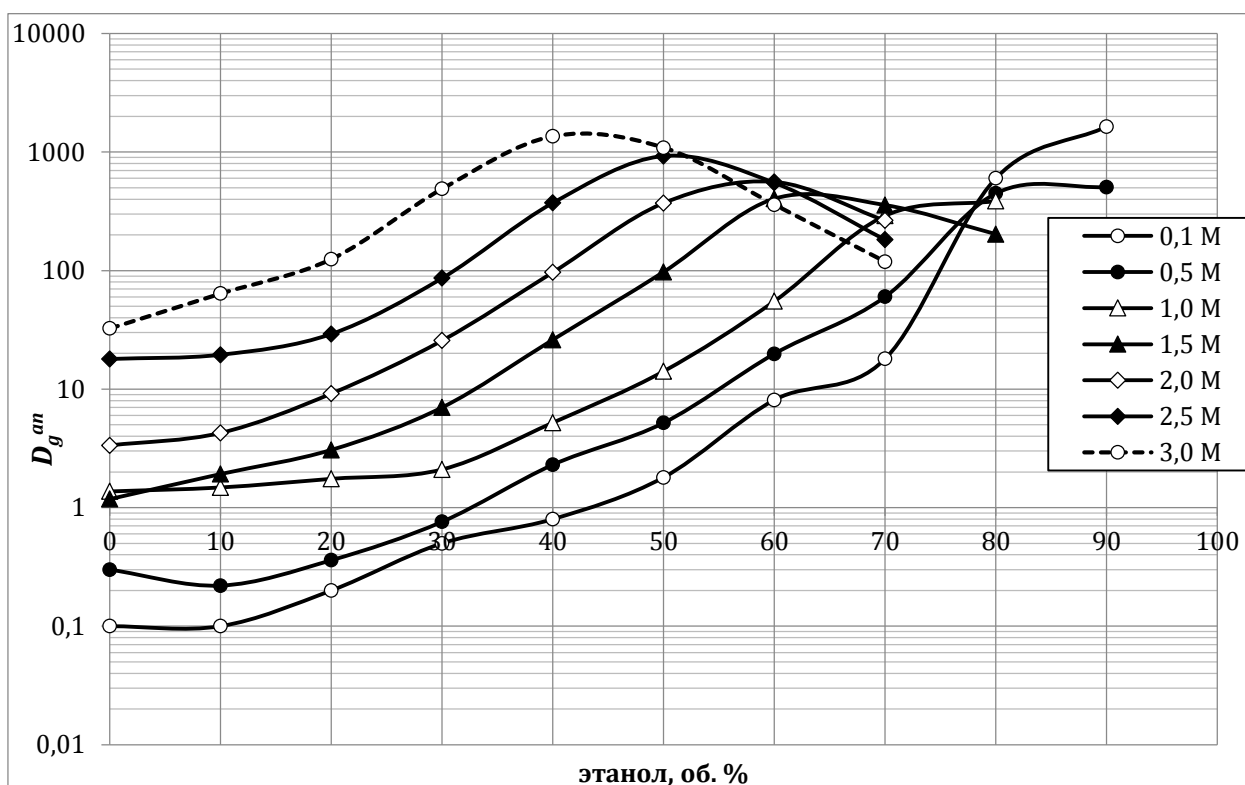


Рисунок 41 – Изменение коэффициента распределения  $^{68}\text{Ga}$  ( $D_g^{an}$ ) при изменении объёмного содержания этанола для различных концентраций HCl на анионите Dowex 1×8

Из экспериментальных данных (Рисунок 41 и Рисунок 42) видно, что наличие максимума коэффициента распределения  $D_g^{an}$  также характерно и для сорбции галлия на анионите в среде этанол–соляная кислота. С ростом кислотности максимум  $D_g^{an}$  также смещается в область более низкого содержания этанола. Примечательно, что максимумы коэффициентов  $D_g^{cat}$  и  $D_g^{an}$  при одной и той же концентрации HCl не совпадают, но находятся очень близко (разница составляет ~ 10 об. % этанола). Стоит отметить, что появление выраженного максимума для сорбции галлия на анионите в случае этанола наблюдается при более высоких концентрациях соляной кислоты (более 1 моль/л); при более низких концентрациях кислоты (от 0,1 до 1,0) наблюдается монотонный рост коэффициента распределения с ростом объёмного содержания этанола. Сами же максимумы коэффициентов распределения для отдельно взятой концентрации соляной кислоты приходятся на большее содержание этанола, чем ацетона (~ +20%). Это вероятно объясняется тем, что этанол слабее ацетона ослабляет гидратное поле вокруг катиона галлия. Также стоит отметить, что коэффициенты распределения галлия в среде этанол–соляная кислота значительно больше (для ряда концентраций более чем в 2 раза), чем в среде ацетон–соляная кислота.



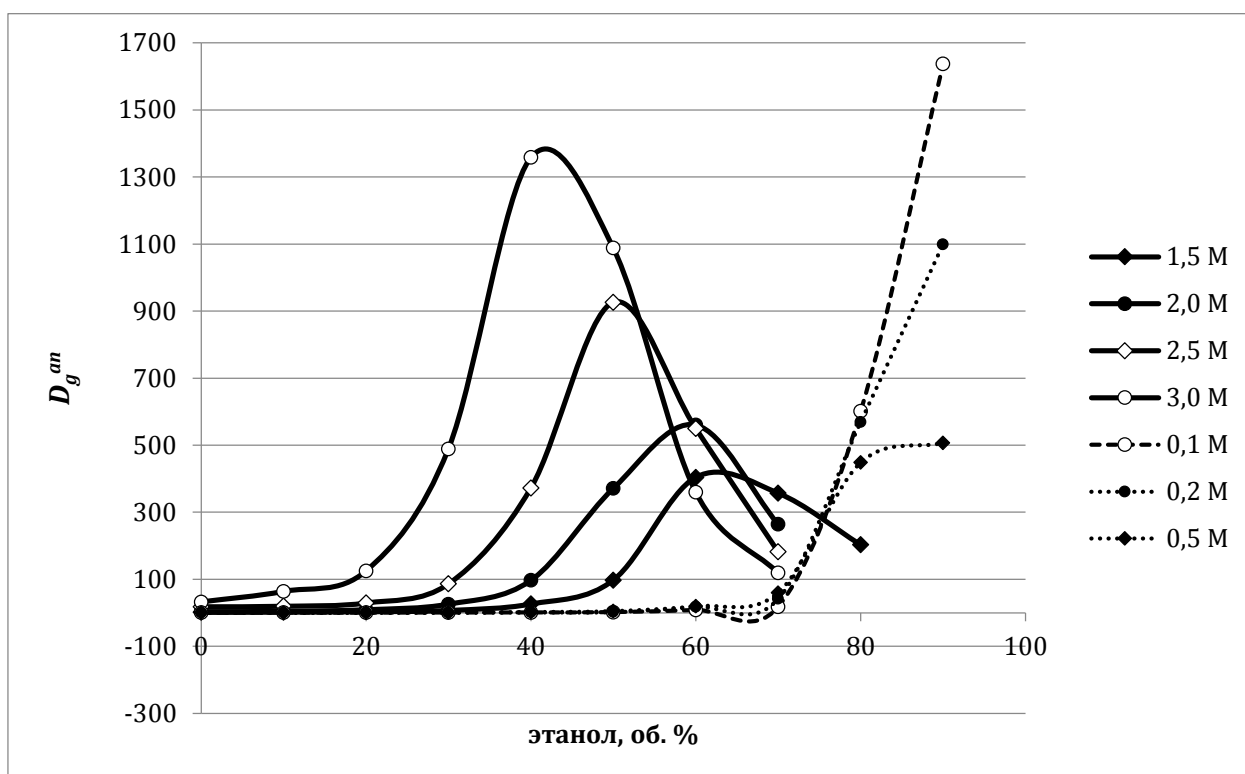


Рисунок 42 – Изменение коэффициента распределения  $^{68}\text{Ga}$  ( $D_g^{an}$ ) при изменении объёмного содержания этанола для нескольких концентраций HCl на анионите Dowex 1×8

Наиболее интересным является тот факт, что для концентраций соляной кислоты 0,1–0,5 моль/л обнаружен аномальный рост коэффициента распределения галлия на анионите с ростом объёмного содержания этанола (для 0,1 М HCl значение коэффициента распределения при 90 об. % этанола превосходит его максимум – при 40 об. % этанола – для 3,0 М HCl). Подобного явления для среды ацетон-соляная кислота отмечено не было. При этом, для концентрации 0,1 М 90 об. % этанола наблюдается высокая сорбция как на катионите, так и на анионите.

Важно отметить, что найденные нами коэффициенты распределения  $^{68}\text{Ga}$  в среде соляная кислота – этанол (Приложение А: Таблица 3 и 4) в ряде случаев значительно превышают по величине опубликованные в более ранних работах [101] – Таблица 18. Также стоит отметить, что в опубликованном исследовании [101] положение максимума коэффициента распределения для каждой отдельно взятой концентрации соляной кислоты отличается от полученного нами на 10-20 % в меньшую сторону.

Таблица 18 – Сравнение полученных в разных исследованиях коэффициентов распределения Ga на катионите Dowex 50W×8 в среде соляная кислота – этанол

Снс, моль/л	об. % этанола											
	0		20		40		60		80		90	
	†	‡	†	‡	†	‡	†	‡	†	‡	†	‡
<b>0,2</b>	3040	14830	8680	18299	>10 <sup>4</sup>	26911	>10 <sup>4</sup>	37355	3860	40720	446	251
<b>0,5</b>	260	867	633	1286	1470	2601	4650	6214	428	5821	3,5	116
<b>1,0</b>	42,6	85,7	102	110	204	226	347	495	5,8	55,2		
<b>2,0</b>	7,8	12,5	13,5	13,73	20,9	18,97	6,3	8,85	<0,5	-		

† – [101];

‡ – настоящее исследование;

Также полученные нами данные не согласуются с результатами, полученными в работе [99], где было изучено катионообменное поведение ряда элементов в смесях соляной кислоты с различными органическими растворителями, как-то: метанол, этанол, *n*-пропанол, этиленгликоль, тетрагидрофуран и т.п., – при этом стоит отметить, что данные [99] и [101] также плохо коррелируют между собой (Таблица 19).

Таблица 19 – Сравнение полученных в разных исследованиях коэффициентов распределения Ga на катионите Dowex 50W×8 в среде соляная кислота – этанол

Снс, моль/л	об. % этанола					
	0	20	40	60	80	90
<b>0,5<sup>†</sup></b>	867	1286	2601	6214	5821	116
<b>0,5<sup>‡</sup></b>	260	633	1470	4650	428	3,5
<b>0,6<sup>§</sup></b>	242	358	535	>10 <sup>3</sup>	268	4
<b>0,75<sup>‡</sup></b>	264	363	753	1694	871	8,1

§ – [99];

† – [101];

‡ – настоящее исследование;

При этом, авторы работы [99] утверждают, что независимо от природы органического растворителя, максимум коэффициента распределения приходится на 60 об. % растворителя, что также не согласуется с полученными в данном исследовании результатами – для каждой отдельно взятой концентрации соляной кислоты максимум коэффициента распределения на катионообменной смоле для смеси с этанолом приходится в среднем на 10-20 об. % большее содержание, чем для смеси с ацетоном.

Наиболее очевидным объяснением различия полученных коэффициентов распределения с приведёнными в литературных источниках является, вероятно, различие в концентрациях элемента, использованных в экспериментах: в работе [101] использовали 5 ммоль-экв Ga(III) в 250 мл раствора и 2,5 г ионообменной смолы, тогда как настоящее исследование проводили на пикомолярных количествах  $^{68}\text{Ga}$  (как радионуклида без носителя) в 1 мл раствора и 20 мг ионообменной смолы, - а также в аналитических подходах к количественной оценке распределения элемента.

Для оценки чисто радиохимических эффектов, влияющих на коэффициент распределения  $^{68}\text{Ga}$ , нами были проведены параллельные серии экспериментов по распределению галлия в статических условиях для нескольких отдельных концентраций – 0,1 и 2,5 М HCl – с радионуклидом  $^{68}\text{Ga}$  в чистой форме и с добавлением носителя – стабильного галлия (в рабочие растворы добавляли GaCl<sub>3</sub> до концентрации 0,02 М). Для катионного обмена никаких статистически значимых различий обнаружено не было, тогда как для анионного обмена было обнаружено, что характер изменения коэффициента распределения остаётся прежним, однако его величина в точке максимума и его окрестностях при добавлении носителя уменьшается примерно в 2-2,5 раза (Таблица 20).

Таблица 20 – Коэффициенты распределения  $^{68}\text{Ga}$  на анионите Dowex 1×8 ( $D_g^{an}$ ) при различных значениях концентрации соляной кислоты и объёмного содержания этанола без добавления носителя и с добавлением

Содержание GaCl <sub>3</sub> , моль/л	С <sub>нсл</sub> , моль/л	% (об.) этанола									
		0	10	20	30	40	50	60	70	80	90
Без носителя	0,1	0,1	0,1	0,2	0,5	0,8	1,8	8,1	18	601	1637
	2,5	17,96	19,49	29,18	86,2	372	926	550	182		
0,02	0,1	0,1	0,1	0,2	0,5	0,8	1,8	8,1	17,7	267	753
	2,5	17,7	20,1	28,8	46,5	155	358	273	97		

Данные результаты показывают, что помимо собственно ионообменных эффектов галлия в смешанных средах, большое значение имеют концентрационные (радиохимические) эффекты. Отдалённое подтверждение рассмотренной в данном исследовании концентрационной зависимости коэффициента распределения галлия можно найти в работе [102], где авторы отметили падение коэффициента распределения галлия (III) в зависимости от его концентрации на катионообменной смоле Dowex 50W × 4 в среде соляной кислоты: при концентрации 0,01 мМ  $D_g^{cat}$  составил 580, а при концентрации 1,0 мМ – уже 37.

При этом, авторы работы [99] утверждают, что независимо от природы органического растворителя, максимум коэффициента распределения приходится на

60 об. % растворителя, что также не согласуется с полученными в данном исследовании результатами (как и не согласуется при сравнении данных работ [101] и [100]): для каждой отдельно взятой концентрации соляной кислоты максимум коэффициента распределения на катионообменной смоле для смеси с этанолом приходится в среднем на 10-20 об. % большее содержание, чем для смеси с ацетоном. И сами коэффициенты распределения, полученные для смеси соляная кислота – этанол, значительно выше полученных для смеси соляная кислота – ацетон как при катионном (Рисунок 43), так и при анионном обмене (Рисунок 44).

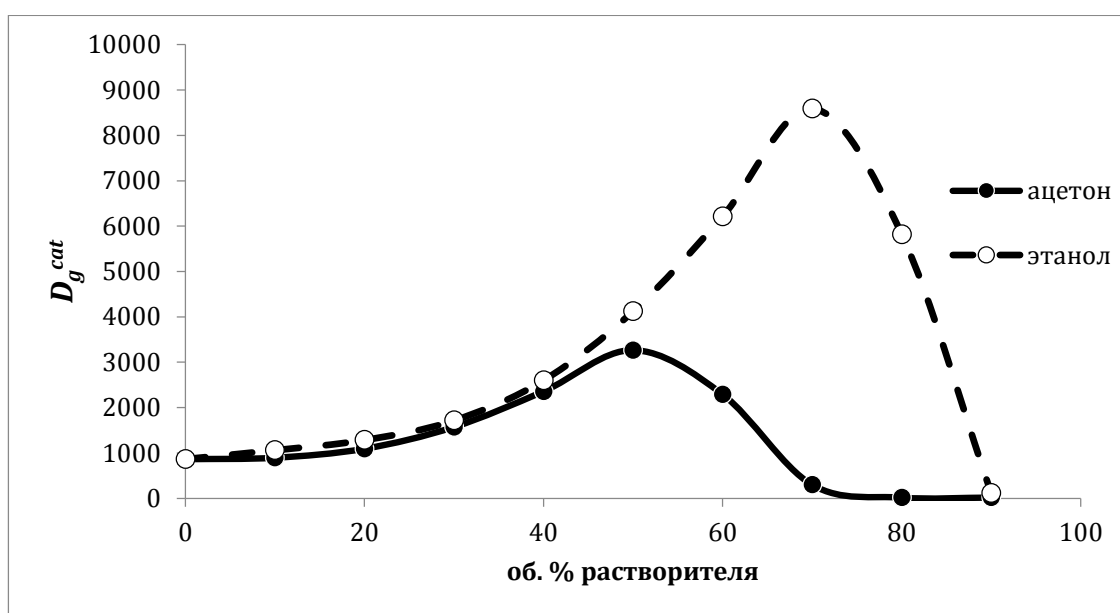


Рисунок 43 – Зависимость коэффициента распределения  $^{68}\text{Ga}$  на катионообменной смоле Dowex 50W×8 от объёмного содержания органического растворителя при концентрации соляной кислоты 0,5 М

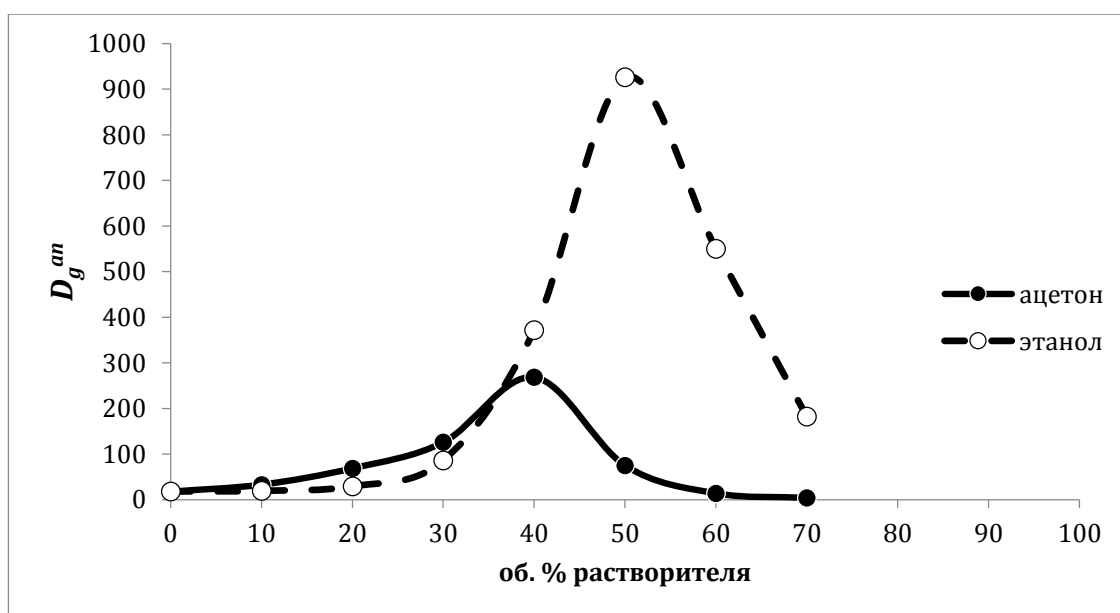


Рисунок 44 – Зависимость коэффициента распределения  $^{68}\text{Ga}$  на анионообменной смоле Dowex 1×8 от объёмного содержания органического растворителя при концентрации соляной кислоты 2,5 М

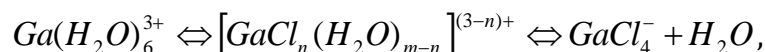
В самом первом приближении эффект различия коэффициентов распределения для одной и той же смолы при добавлении различных органических растворителей можно было бы связать с различной степенью набухания смолы в среде того или иного растворителя – Таблица 21.

Таблица 21 – Величина набухания ионообменной смолы ( $\delta$ , моль растворителя на экв. сухой смолы) в зависимости от среды [103]

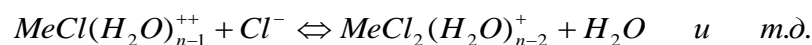
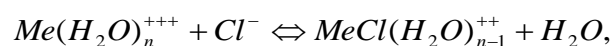
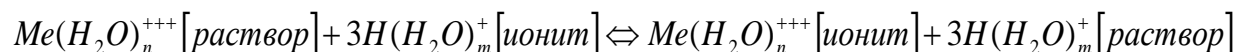
Растворитель	$\delta$ , Dowex 1 (Cl-форма)	
	×4	×8
<i>вода</i>	18,8	14,1
<i>этанол</i>	5,2	2,9
<i>ацетон</i>	0,69	0,54

Однако, сравнительно незначительные изменения  $\delta$  для различных органических растворителей не могут быть объяснением столь большого различия в величине  $D_g$ .

Равновесие ионных форм в водной среде для системы Ga(III) – Cl<sup>-</sup> может быть описано следующим уравнением:



где  $m = 6-n$ ,  $n = 0 \div 4$ , а также следующей системой уравнений (справедливой для ионных взаимодействий большинства трёхзарядных катионов металлов):



Аквакомплексы сольватированы в растворе как за счёт электростатической гидратации, так и за счёт образования водородных связей (ван-дер-ваальсовых взаимодействий) между водой (или другими молекулами) раствора и координированной водой (водой первой координационной сферы катиона), что приводит к существованию как контактных, так и сольватноразделённых ионных пар.

Добавление гидрофильного органического растворителя в водную систему приводит к двум эффектам: снижению активности воды  $a_w$  и изменению диэлектрической проницаемости среды (снижению).

Первый эффект может обуславливать первоначальный рост коэффициента распределения вместе с ростом объёмного содержания растворителя как для

катионного, так и для анионного обмена: за счёт снижения активности воды ослабляется гидратное поле вокруг комплекса и, как следствие облегчается его диффузия к активным группам ионита (облегчается образование кулоновских взаимодействий). Оценка величины активности воды для трёхкомпонентной системы (вода–соляная кислота–органический растворитель) является чрезвычайно сложной задачей. Однако, расчётные значения коэффициента активности воды ( $l_w$ ) при температуре 298 К и мольной доле воды ( $x_w$ ) 0,5 (UNIFAC [104]) составляют для смеси вода-ацетон 1,6277 и для смеси вода-этанол 1,4968 ( $a_w = l_w \times x_w$ ) [105], а в общем, для одного и того же соотношения вода:растворитель активность воды возрастает в ряду метанол-этанол-*n*-пропанол-ацетон.

Как уже говорилось ранее, в случае катионного обмена коэффициент распределения, после прохождения максимума, начинает падать за счёт того, что гидратное поле вокруг катиона ослабевает настолько, что анионы хлора полностью замещают диполи воды в координационной сфере иона, комплекс приобретает отрицательный заряд, и не может вступать в реакции ионного обмена с активными группами катионообменника, а условия среды ещё не могут изменить внутреннюю фазу смолы для наступления необменной сорбции.

Второй эффект проще всего объяснить упрощённым уравнением Борна (без учёта вклада природы противоиона) [106,107]:

$$\Delta G_t = \frac{Z^2 \cdot e^2}{2r} \times \left( \frac{1}{\varepsilon_1} - \frac{1}{\varepsilon_2} \right),$$

где  $\Delta G_t$  – свободная энергия переноса иона с зарядом  $Z$  и радиусом  $r$  из среды с диэлектрической проницаемостью  $\varepsilon_1$  в среду с диэлектрической проницаемостью  $\varepsilon_2$ . Для переноса иона из водного раствора ( $\varepsilon \sim 80$ ) на ионит ( $\varepsilon \sim 40$ ) [108]  $\Delta G_t$  должна быть положительной, но любые изменения в диэлектрической проницаемости водной среды будут снижать свободную энергию переноса иона и, как следствие, снижать коэффициент распределения  $D_g$ . Так, при 25°C диэлектрическая проницаемость воды составляет 78,3, а для смеси вода-этанол и вода-ацетон при мольной доле компонентов 0,5 составляет ~37 и ~32 соответственно [109].

Таким образом, падение коэффициента распределения на анионообменной смоле с ростом объёмного содержания растворителя, когда из-за ослабленности гидратного поля и других факторов Ga уже находится в форме аниона  $[\text{GaCl}_4]^-$  (контактной ионной «пары»), связано с падением диэлектрической проницаемости

среды за счёт высокого содержания растворителя, и этот эффект становится доминирующим.

Ещё одним фактором, влияющим на то, что ионообменное поведение Ga (главным образом – коэффициент распределения) отличается для среды соляной кислоты с различными органическими растворителями, является тот факт, что диссоциация функциональных групп ионообменной смолы изменяется в зависимости от состава среды: добавление гидрофильного органического растворителя зачастую повышает диссоциацию функциональных групп, тем самым увеличивая их «реакционную способность» [107] – Рисунок 45.

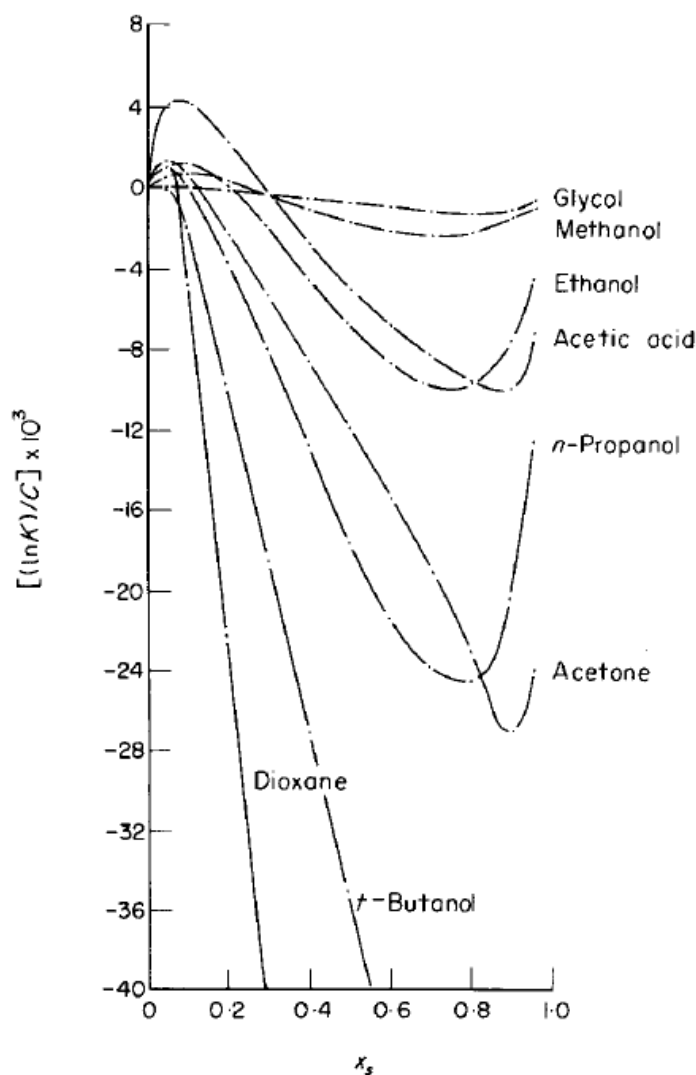


Рисунок 45 – Зависимость относительного параметра диссоциации функциональных групп ионита Dowex 1×8 в Cl<sup>-</sup>-форме от мольной доли органического растворителя в растворе [107]

Как видно из приведённых данных, в среде, содержащей этанол, функциональные группы ионита более «реакционноспособны», чем в среде с

ацетоном, и в обеих средах «реакционная способность» функциональных групп выше, чем в чисто водной среде.

С целью более подробного изучения форм и состава комплексов Ga в исследуемых средах (на примере среды этанол-соляная кислота) был проведён ряд спектральных экспериментов.

*3.3.1 Исследование особенностей сольватации ионов Ga<sup>3+</sup> методом анализа околопороговой тонкой структуры рентгеновского спектра поглощения (XANES) и протяжённой тонкой структуры рентгеновского спектра поглощения (EXAFS)*

С целью изучения особенностей сольватации ионов Ga<sup>3+</sup> в растворах системы H<sub>2</sub>O-HCl-EtOH было проведено рентгеноспектральное исследование серии растворов, различающихся соотношением компонентов, при концентрации галлия во всех образцах 5 мМ – Таблица 22.

Таблица 22 – Перечень образцов и проведенных рентгеноспектральных измерений

№ серии	№ образца	C <sub>EtOH</sub> , об. %	C <sub>HCl</sub> , М	XANES	EXAFS
I	1	0	0,1	+	+
	2	10	0,1	+	+
	3	20	0,1		
	4	30	0,1		
	5	40	0,1	+	+
	6	50	0,1		
	7	60	0,1		
	8	70	0,1	+	+
	9	80	0,1	+	+
	10	90	0,1	+	+
II	11	0	0,5	+	+
	12	10	0,5		
	13	20	0,5	+	+
	14	30	0,5		
	15	40	0,5	+	+
	16	50	0,5	+	+
	17	60	0,5		
	18	70	0,5	+	+
	19	80	0,5	+	
	20	90	0,5	+	+
III	21	0	2,5	+	+
	22	10	2,5	+	+
	23	20	2,5		
	24	30	2,5	+	+
	25	40	2,5	+	+
	26	50	2,5	+	+
	27	60	2,5		
	28	70	2,5	+	+



Спектры XANES на К-крае галлия были сняты для нескольких образцов каждой серии растворов (состав образцов см. Таблица 22) – Рисунок 46.

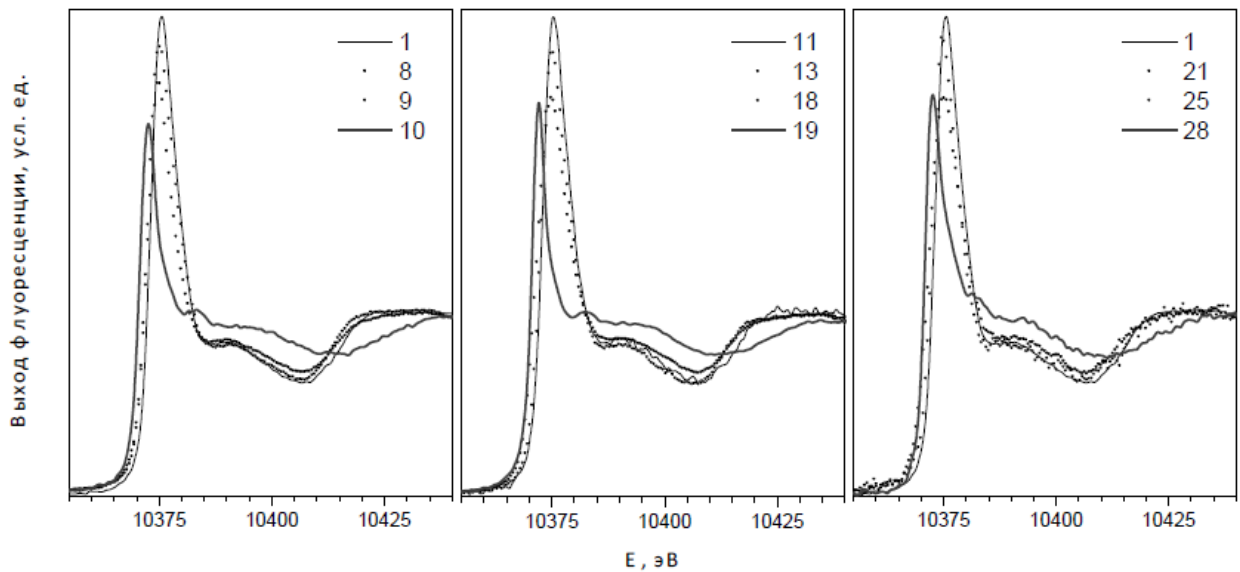


Рисунок 46 – Экспериментальные спектры XANES на К-крае галлия для репрезентативной выборки этанольно-солянокислых растворов Ga

В случае растворов солей галлия в чистой воде наиболее вероятной формой существования ионов галлия является аква-комплекс  $[\text{Ga}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$  с октаэдрической координацией атомов галлия кислородом. По результатам спектрального моделирования (Рисунок 47), тонкая околосредовая структура экспериментального спектра поглощения для образца 1 (минимальная концентрация соляной кислоты, отсутствие этанола) вполне соответствует такой модели.

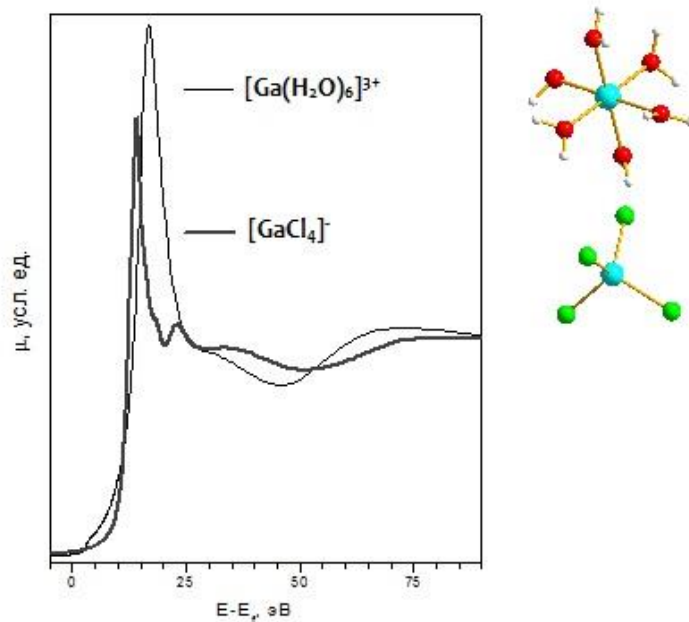


Рисунок 47 – Теоретические спектры XANES для комплексов  $[\text{Ga}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$  и  $[\text{GaCl}_4]^-$

Для первой серии растворов (концентрация HCl 0,1 М) при переходе к образцу 10 ( $C_{\text{EtOH}}$  90 об. %) наблюдается сдвиг по энергии и резкое изменение формы спектра XANES, указывающие на смещение равновесия в сторону иной формы существования ионов Ga(III) в растворе. Эта форма была идентифицирована как хлоридный комплекс галлия с тетраэдрической координацией типа аниона  $[\text{GaCl}_4]^-$  (или нейтральной димерной молекулы  $\text{Ga}_2\text{Cl}_6$ , являющейся базовой структурной единицей в кристаллической структуре безводного хлорида галлия (III)) [110].

Для второй и третьей серий растворов наблюдаются, в целом, те же тенденции: в безэтанольных образцах (11 и 21) доминирует аква-комплекс, а в спиртовых растворах равновесие смещается в сторону хлоридных комплексов. Однако с повышением концентрации соляной кислоты такое изменение доминирующего типа координации наблюдается для разных концентраций этанола. Так, для второй серии ( $C_{\text{HCl}}$  0,5 М) переход наблюдается для образца 19 ( $C_{\text{EtOH}}$  80 об. %), а для третьей ( $C_{\text{HCl}}$  2,5 М) – уже для образца 28 ( $C_{\text{EtOH}}$  70 об. %).

Приняв, что в растворах 1 и 10 наблюдаются «чистые» формы  $\text{GaO}_6$  и  $\text{GaCl}_4$ , можно использовать метод главных компонент для проверки присутствия хлоридных комплексов в других растворах путем разложения экспериментального спектра в линейную комбинацию реперных спектров. Пример такого разложения – Рисунок 48.

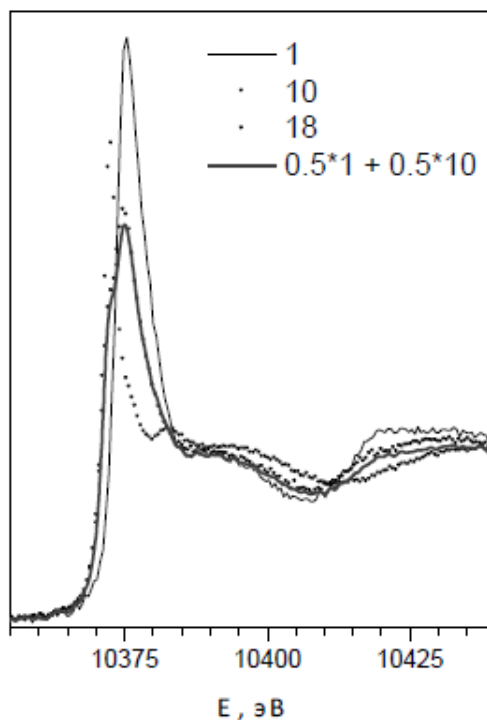


Рисунок 48 – Пример разложения экспериментального спектра XANES для раствора 18 в линейную комбинацию реперных спектров, представляющих вклады  $\text{GaO}_6$  и  $\text{GaCl}_4$

Получается, что для первой серии растворов вклад тетраэдрических хлоридных комплексов становится ненулевым для образца 9 (доля  $[\text{GaCl}_4]^-$  около 30%). Для второй серии хлоридные комплексы наблюдаются впервые для образца 15 (~20%), а для третьей серии вклад хлоридных комплексов (около 15%) детектируется уже для начального образца 21, не содержащего этанола.

Сделанные из анализа спектров XANES выводы независимо подтверждаются результатами количественной обработки спектров EXAFS, позволяющей определить координационные числа и межатомные расстояния для атомов в первой координационной сфере ионов галлия. Фурье-трансформанты экспериментальных спектров EXAFS для нескольких образцов первой серии приведены на Рисунок 49 вместе с теоретическими кривыми, полученными оптимизацией структурной модели, включающей потенциальные вклады Ga-O и Ga-Cl.

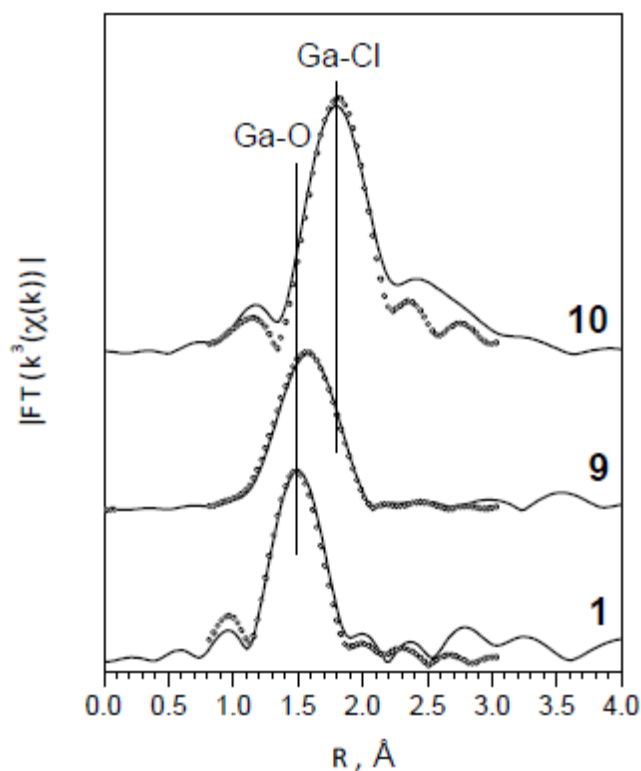


Рисунок 49 – Фурье-трансформанты спектров EXAFS на К-края галлия для некоторых из исследованных растворов: экспериментальные (сплошные линии) и оптимизированные теоретические кривые (пунктир)

По данным EXAFS окружение ионов галлия в растворе 1 состоит из 6 атомов кислорода с межатомным расстоянием Ga-O 1,97 Å, а в растворах 10, 20, 28 – из 4 атомов Cl с межатомным расстоянием Ga-Cl 2,18-2,21 Å. Полученные длины связей Ga-O и Ga-Cl близки к характерным значениям, полученным методом EXAFS для водных

растворов солей  $\text{Ga}^{3+}$  [111], и кристаллографическим данным для  $\text{Ga}_2\text{Cl}_6$  [110] соответственно.

В дополнение к приведенным выше выводам по данным EXAFS удалось установить, что для полного описания характера комплексообразования ионов галлия в этанольно-солянокислых растворах необходимо ввести в рассмотрение смешанные аква-хлоридные октаэдрические комплексы  $[\text{Ga}(\text{H}_2\text{O})_5\text{Cl}]^{2+}$  и  $[\text{Ga}(\text{H}_2\text{O})_4\text{Cl}_2]^+$ , для которых характерное межатомное расстояние Ga-Cl составляет 2.33-2.35 Å. Такие формы галлия по данным EXAFS наблюдаются в растворах первой и второй серий 2, 5, 8, 11, 13. Максимальное эффективное координационное число Ga-Cl наблюдается для образца 13: оно равно 1.8, что подразумевает доминирование в растворе тетрааквадихлорокатионов  $[\text{Ga}(\text{H}_2\text{O})_4\text{Cl}_2]^+$ .

Для растворов третьей серии (концентрация  $\text{HCl}$  2,5 М) данные EXAFS подтверждают вывод XANES о том, что связывание хлора галлием наблюдается уже для образца 21, не содержащего этанола. Правда, длина связи Ga-Cl 2.27 Å в этом случае принимает промежуточное значение между характерными для октаэдрических аквахлоридных и тетраэдрических хлоридных комплексов. Аналогичная ситуация наблюдается для растворов 22, 24 и 25 с постепенным ростом доли координированного хлора. По всей видимости, в этих растворах наблюдается сложный многокомпонентный баланс форм без ярко выраженного доминирования какой-либо одной формы, и точности EXAFS оказывается недостаточно для однозначного восстановления их распределения. Лишь для раствора 26 можно утверждать, что доминирующей формой становится  $[\text{GaCl}_4]^-$ .

Результаты обработки спектров EXAFS для всех исследованных образцов, а также предположительный состав комплексов галлия, сосуществующих в растворах при различных концентрациях компонент, учитывающий как данные EXAFS, так и XANES, приведены в Таблица 23.

Таблица 23 – Параметры координационного окружения ионов Ga<sup>3+</sup> в исследованных растворах по данным EXAFS и предполагаемый баланс форм

Образец	Коорд. сфера	N	R, Å	Баланс форм
1	Ga-O	6.0	1.97	100% [Ga(H <sub>2</sub> O) <sub>6</sub> ] <sup>3+</sup>
2	Ga-O Ga-Cl	5.7 0.3	1.95 2.34	70% [Ga(H <sub>2</sub> O) <sub>6</sub> ] <sup>3+</sup> + 30% [Ga(H <sub>2</sub> O) <sub>5</sub> Cl] <sup>2+</sup>
5	Ga-O Ga-Cl	5.5 0.5	1.96 2.33	50% [Ga(H <sub>2</sub> O) <sub>6</sub> ] <sup>3+</sup> + 50% [Ga(H <sub>2</sub> O) <sub>5</sub> Cl] <sup>2+</sup>
8	Ga-O Ga-Cl	4.7 1.3	1.97 2.35	70% [Ga(H <sub>2</sub> O) <sub>5</sub> Cl] <sup>2+</sup> + 30% [Ga(H <sub>2</sub> O) <sub>4</sub> Cl <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> или 35% [Ga(H <sub>2</sub> O) <sub>6</sub> ] <sup>3+</sup> + 65% [Ga(H <sub>2</sub> O) <sub>4</sub> Cl <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>
9	Ga-O Ga-Cl	4.1 1.2	1.96 2.24	70% [Ga(H <sub>2</sub> O) <sub>6</sub> ] <sup>3+</sup> + 30% [GaCl <sub>4</sub> ] <sup>-</sup>
10	Ga-Cl	4.0	2.20	100% [GaCl <sub>4</sub> ] <sup>-</sup>
11	Ga-O Ga-Cl	5.2 0.8	1.96 2.33	20% [Ga(H <sub>2</sub> O) <sub>6</sub> ] <sup>3+</sup> + 80% [Ga(H <sub>2</sub> O) <sub>5</sub> Cl] <sup>2+</sup>
12	Ga-O Ga-Cl	4.9 1.1	1.96 2.35	90% [Ga(H <sub>2</sub> O) <sub>5</sub> Cl] <sup>2+</sup> + 10% [Ga(H <sub>2</sub> O) <sub>4</sub> Cl <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> или 45% [Ga(H <sub>2</sub> O) <sub>6</sub> ] <sup>3+</sup> + 55% [Ga(H <sub>2</sub> O) <sub>4</sub> Cl <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>
13	Ga-O Ga-Cl	4.2 1.8	1.96 2.33	20% [Ga(H <sub>2</sub> O) <sub>5</sub> Cl] <sup>2+</sup> + 80% [Ga(H <sub>2</sub> O) <sub>4</sub> Cl <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> или 10% [Ga(H <sub>2</sub> O) <sub>6</sub> ] <sup>3+</sup> + 90% [Ga(H <sub>2</sub> O) <sub>4</sub> Cl <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>
15	Ga-O Ga-Cl	4.8 0.8	1.92 2.25	80% [Ga(H <sub>2</sub> O) <sub>6</sub> ] <sup>3+</sup> + 20% [GaCl <sub>4</sub> ] <sup>-</sup>
16	Ga-O Ga-Cl	4.9 0.7	1.95 2.25	80% [Ga(H <sub>2</sub> O) <sub>6</sub> ] <sup>3+</sup> + 20% [GaCl <sub>4</sub> ] <sup>-</sup>
18	Ga-O Ga-Cl	3.0 2.0	1.94 2.21	50% [Ga(H <sub>2</sub> O) <sub>6</sub> ] <sup>3+</sup> + 50% [GaCl <sub>4</sub> ] <sup>-</sup>
20	Ga-Cl	4.0	2.18	100% [GaCl <sub>4</sub> ] <sup>-</sup>
21	Ga-O Ga-Cl	5.0 0.6	1.96 2.27	-
22	Ga-O Ga-Cl	4.9 0.8	1.95 2.27	-
24	Ga-O Ga-Cl	4.3 1.1	1.93 2.27	-
25	Ga-O Ga-Cl	4.2 1.2	1.94 2.26	-
26	Ga-O Ga-Cl	1.0 3.3	1.92 2.19	15% [Ga(H <sub>2</sub> O) <sub>6</sub> ] <sup>3+</sup> + 85% [GaCl <sub>4</sub> ] <sup>-</sup>
28	Ga-Cl	4.0	2.18	100% [GaCl <sub>4</sub> ] <sup>-</sup>

### 3.3.2 Исследование особенностей сольватации ионов $Ga^{3+}$ методом ядерно-магнитного резонанса на ядрах $^{71}Ga$

Спектры ядерного-магнитного резонанса на ядрах  $^{71}Ga$  были сняты для серии образцов различного по концентрации кислоты и объёмному содержанию этанола состава (Таблица 24).

Таблица 24 – Состав образцов, использованных для снятия ЯМР-спектров (концентрация галлия в каждом образце – 0,02 М)

№ образца	С <sub>этан</sub> , об. %	С <sub>НСl</sub> , М
1	0	2,5
2	10	2,5
3	20	2,5
4	30	2,5
5	40	2,5
6	50	2,5
7	60	2,5
8	70	2,5
9	0	0,1
10	90	0,1
11	0	5

Как уже было сказано, наиболее вероятной формой нахождения галлия в водных растворах является гексааквакатион  $[Ga(H_2O)_6]^{3+}$  с октаэдрической координацией, что подтверждается рядом литературных данных [112,113,114] и экспериментальными данными по анализу тонкой структуры рентгеновского спектра поглощения галлия в различных средах, полученными в данной работе (см. 3.3.1, Таблица 23). Данной форме соответствует и внешний стандарт – 0,1 М  $Ga(ClO_4)_3$  в  $D_2O$ , – использованный для снятия ЯМР-спектров в данной серии экспериментов [112].

Единственный сигнал, соответствующий катиону  $[Ga(H_2O)_6]^{3+}$  с октаэдрической координацией ( $\delta = 0$  м.д.), присутствует на ЯМР-спектрах серии образцов с концентрацией соляной кислоты 2,5 М и объёмным содержанием этанола от 0 до 40 % - Рисунок 50. У образца 6 (50 об. % этанола) на ЯМР-спектре появляется второй сигнал ( $\delta \sim 250$  м.д.), соответствующий тетрахлоргаллатаниону с тетраэдрической координацией  $[GaCl_4]^-$  [112]. При объёмном содержании этанола 60 % (образец 7) сигнал тетраэдрического комплекса становится доминантным, а при объёмном содержании этанола 70 % (образец 8) – единственным. При этом, исходя из интенсивности сигналов ЯМР, соотношение комплексов  $[GaCl_4]^-$  и  $[Ga(H_2O)_6]^{3+}$  для образца 6 составляет 3:1, а для образца 7 – 30:1. Данные результаты хорошо

коррелируют с результатами, полученными в ходе данной работы методами XANES и EXAFS (Таблица 23), а различия в соотношении форм связаны, главным образом, с различием концентрации Ga в образцах – 0,005 М для XANES/EXAFS и 0,02 М для ЯМР, – и, соответственно, соотношении концентраций Ga:Cl.

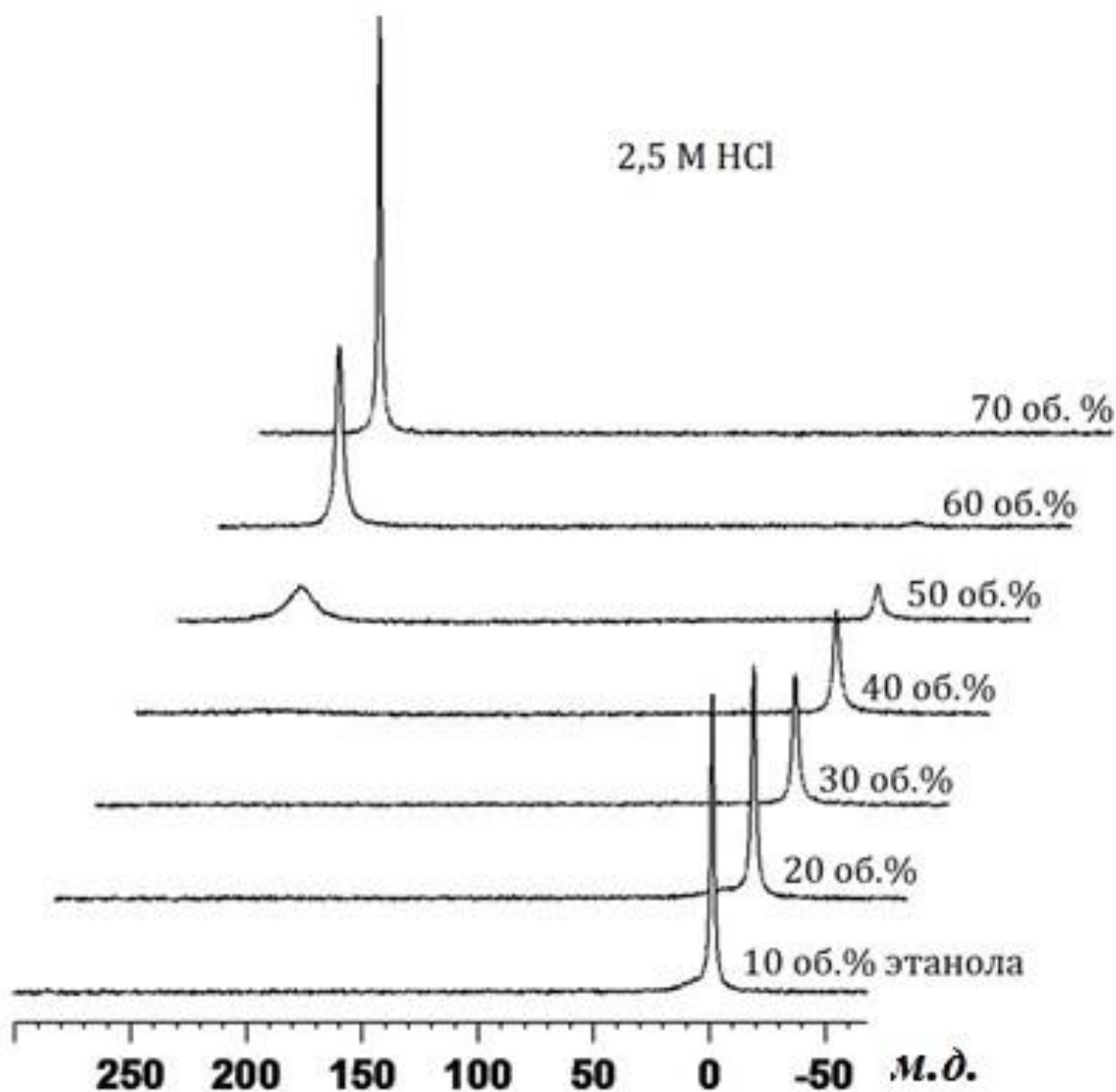


Рисунок 50 – ЯМР-спектры образцов 2–8 (Таблица 24) снизу вверх

Экспериментальные данные наглядно демонстрируют, как добавление органического растворителя (этанола) приводит к образованию контактной ионной «пары» Ga---Cl в растворе при относительно небольших концентрациях ионов хлора, и, соответственно, переходу октаэдрического катиона  $[Ga(H_2O)_6]^{3+}$  в тетраэдрический анион  $[GaCl_4]^-$  вследствие координационной лабильности галлия.

Важно отметить, что при используемой в данной серии экспериментов концентрации галлия в растворе, сигнала, соответствующего тетраэдрическому

аниону  $[GaCl_4]^-$ ; не зафиксировано на ЯМР-спектрах образцов с концентрацией соляной кислоты 0,1 М (образец 9), 2,5 М (образец 8) и даже 5 М (образец 11) – Рисунок 51.

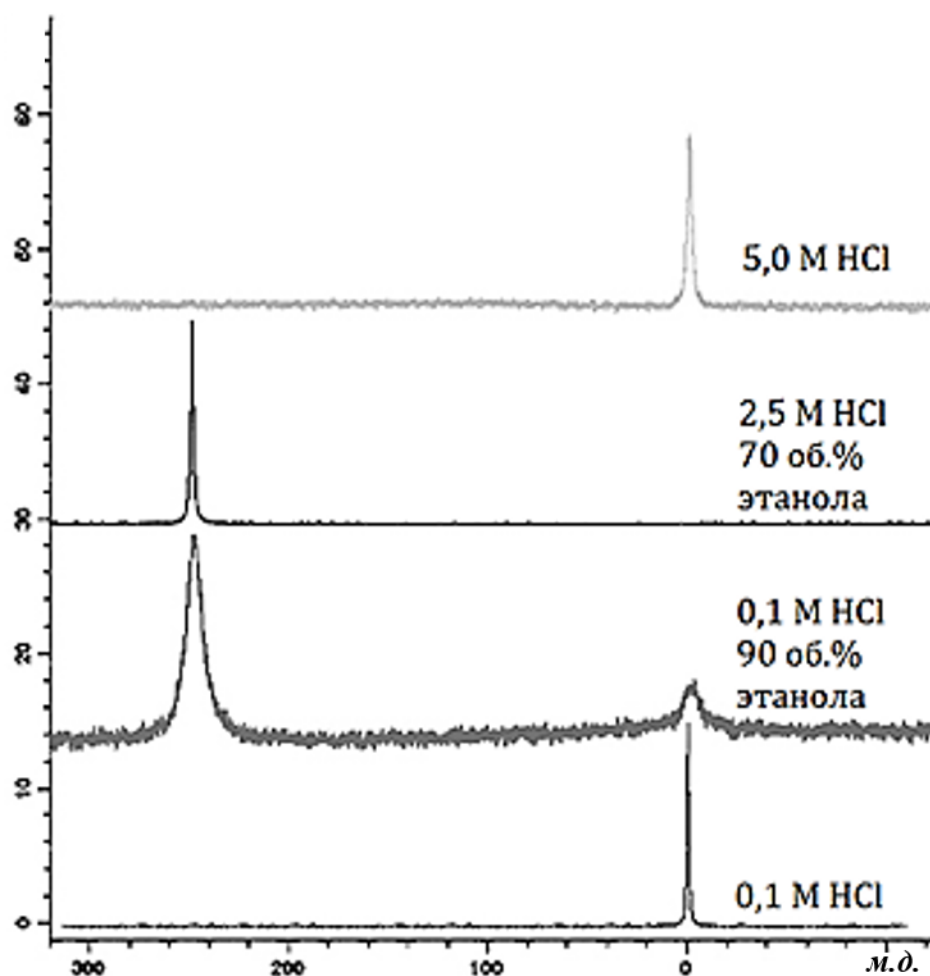


Рисунок 51 – ЯМР-спектры исследованных образцов (снизу вверх): 9, 10, 8, 11 (Таблица 24)

Таким образом, данные по количественному выделению галлия на анионообменной смоле из соляной кислоты с концентрацией  $\sim 4$  М [66,52], справедливы исключительно для пикомолярных количеств галлия, то есть количеств радионуклида без носителя. В данном аспекте особенно примечательным является тот факт, что добавление органического растворителя приводит к переходу даже весовых количеств галлия в форму хлоргаллатаниона уже при крайне низких концентрациях соляной кислоты – 0,1 М HCl 90 об. % этанола (образец 10, Рисунок 51).

Стоит отметить, что данные ЯМР не подтверждают, но и не опровергают существование других комплексных форм галлия в растворе ( $[GaCl_n(H_2O)_{m-n}]^{(3-n)+}$ ), отмеченных в ходе экспериментов по анализу тонкой структуры рентгеновского



спектра поглощения галлия в различных средах. В растворе могут находиться разные комплексные формы галлия. Быстрый обмен между ними и обмен координированных лигандов со свободными молекулами растворителя и ионами приводит к усреднению сигнала ЯМР. Чем ближе химические сдвиги этих комплексов, тем более медленный обмен приводит к коалесценции сигналов ЯМР. При этом, положение объединенного сигнала зависит от вкладов отдельных форм. При обмене также может наблюдаться уширение сигнала за счет изменения градиента электрического поля на ядре галлия при изменении состава координационной сферы. Таким образом, вполне вероятно, что комплексные формы  $[\text{Ga}(\text{H}_2\text{O})_5\text{Cl}]^{2+}$  и  $[\text{Ga}(\text{H}_2\text{O})_4\text{Cl}_2]^+$  не наблюдаются в спектре ЯМР из-за сильного уширения сигнала, связанного с низкой симметрией комплексных частиц.

## Глава 4. Изучение ионообменного поведения $^{68}\text{Ga}$ в динамических условиях

### 4.1 Исследование ионообменного поведения $^{68}\text{Ga}$ в среде соляная кислота – ацетон в динамических условиях

Первоначально были проведены эксперименты для оценки эффективности сорбции  $^{68}\text{Ga}$  (%) из 0,1 М HCl (элюат генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ ) в динамических условиях на катионите Dowex AG 50W × 8 в колонке 50 × Ø2,1 мм при различном содержании смолы в колонке и различных скоростях потока (Таблица 25). Объём пропущенного раствора в каждом случае составлял 5 мл.

Таблица 25 – Сорбция  $^{68}\text{Ga}$  (%) на катионите Dowex AG 50W × 8 в динамических условиях

Скорость потока, мл/мин	Масса катионита, мг		
	10	20	40
0,5	88,1 ± 1,1	99,1 ± 0,4	99,4 ± 0,4
1,0	83,7 ± 1,9	98,7 ± 0,8	99,1 ± 0,6
5,0	76,3 ± 2,5	96,1 ± 1,2	98,2 ± 1,3

Экспериментальные данные показывают, что эффективная сорбция  $^{68}\text{Ga}$  из элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  в динамических условиях может быть достигнута уже при небольших количествах катионита (20 мг) и при значительных скоростях потока (1 мл/мин – рекомендуемая скорость элюирования генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ , 5 мл/мин – максимальная скорость элюирования генератора, установленная изготовителем).

Из экспериментальных данных, полученных при изучении ионообменного поведения  $^{68}\text{Ga}$  в статических условиях (3.2), видно, что эффективной десорбции  $^{68}\text{Ga}$  с катионообменной смолы можно добиться, используя в качестве элюента раствор с концентрацией соляной кислоты 2,0–2,5 М и объёмным содержанием ацетона от 30 до 40 %.

Важно отметить, что в данном аспекте подразумевается десорбция  $^{68}\text{Ga}$  с катионообменной смолы растворами такого состава, в которых можно ожидать и эффективной сорбции на анионообменной смоле. На основании исследований [75], нами были проведены эксперименты, показывающие, что значительная десорбция  $^{68}\text{Ga}$  с катионообменной смолы может быть достигнута при использовании в качестве элюента растворов с крайне низким содержанием соляной кислоты (0,01-0,1 М), но очень высоким содержанием ацетона (95-98 об. %) – Рисунок 52.

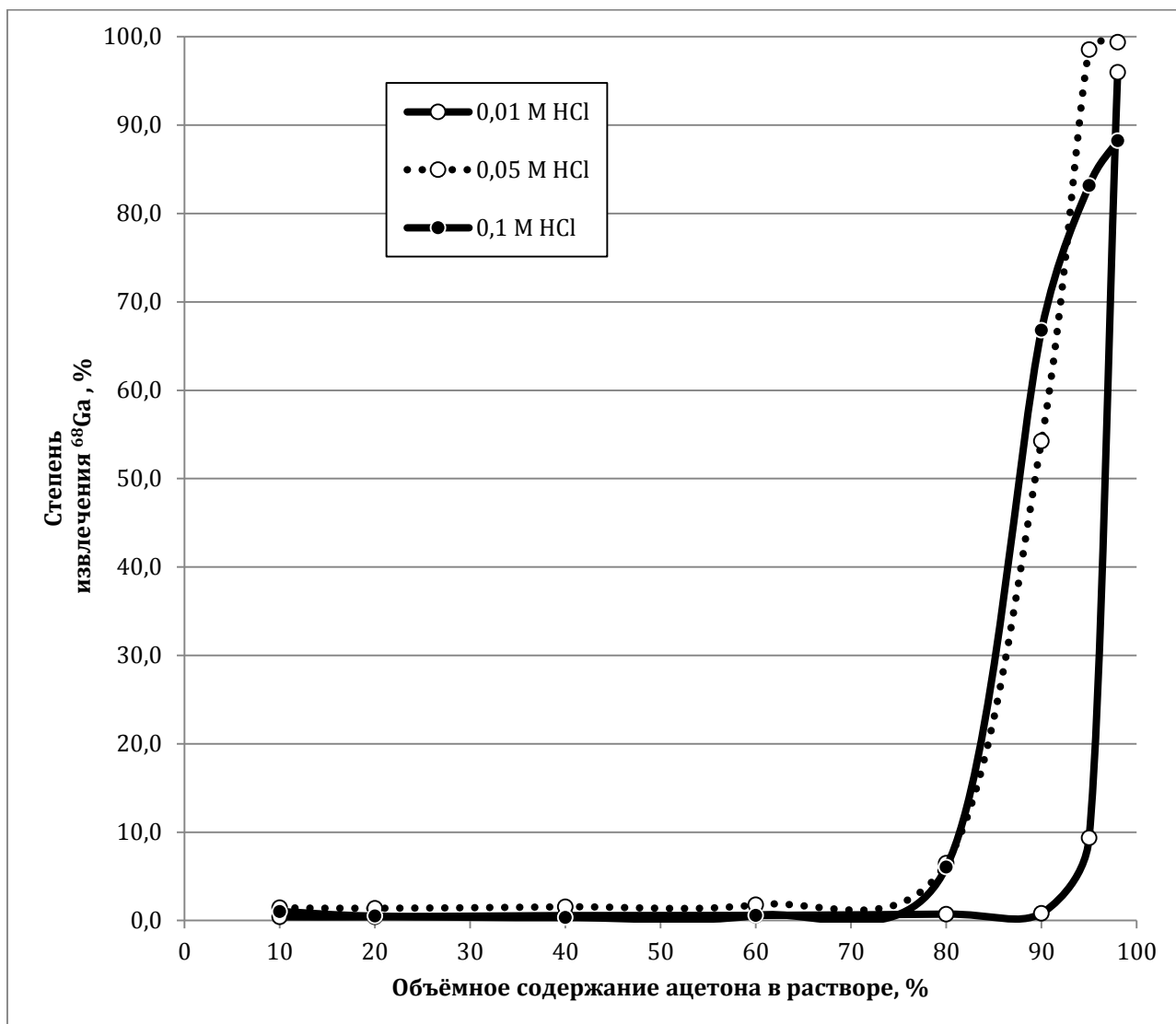


Рисунок 52 – Зависимость степени извлечения  $^{68}\text{Ga}$  при десорбции с катионообменной смолы Dowex 50W  $\times$  8 от концентрации HCl и ацетона в растворе

При крайне низких концентрациях соляной кислоты также, как и при ионном обмене  $^{68}\text{Ga}$  в статических условиях, наблюдается своеобразный экстремум: наиболее эффективная десорбция  $^{68}\text{Ga}$  происходит в растворе 0,05 M HCl (98 об. % ацетона) ~ 99 %. Однако, данный эффект не может быть использован в разрабатываемой технологии, поскольку сорбция  $^{68}\text{Ga}$  на анионообменной смоле из растворов состава 0,01-0,1 M HCl (90-98 об. % ацетона) пренебрежимо мала.

Таким образом, в дальнейших исследованиях была изучена зависимость степени извлечения  $^{68}\text{Ga}$  при десорбции с катионообменной смолы от состава элюента в диапазоне концентраций соляной кислоты от 2,0 до 3,0 и объемном содержании ацетона от 30 до 50 об. % – Таблица 26. Объем элюента в каждом случае составлял 5 мл, скорость потока – 1 мл/мин, масса смолы в колонке – 20 мг.

Таблица 26 – Десорбция  $^{68}\text{Ga}$  (%) с катионита в динамических условиях в зависимости от состава элюента

Концентрация ацетона в элюенте, об. %	Концентрация HCl в элюенте, моль/л		
	2,0	2,5	3,0
30	86,1 ± 0,9	96,3 ± 1,7	98,0 ± 1,1
40	96,1 ± 1,9	98,7 ± 0,9	98,9 ± 0,8
50	97,9 ± 1,5	98,9 ± 0,3	99,0 ± 0,2

Экспериментальные данные по сорбции  $^{68}\text{Ga}$  (%) на анионите Dowex AG 1×8 в динамических условиях из растворов выбранного состава (Таблица 27) говорят о возможности эффективной сорбции  $^{68}\text{Ga}$  на анионообменной смоле при одновременной десорбции с катионообменной смолы – (масса смолы в колонке составляла в каждом случае 20 мг, скорость потока – 1 мл/мин).

Таблица 27 – Сорбция  $^{68}\text{Ga}$  (%) на анионите в динамических условиях

Концентрация ацетона в элюенте, об. %	Концентрация HCl в элюенте, моль/л		
	2,0	2,5	3,0
30	75,3 ± 0,9	93,5 ± 0,9	98,3 ± 1,1
40	94,5 ± 1,2	96,7 ± 1,1	97,8 ± 0,9
50	81,6 ± 0,3	86,2 ± 0,7	86,4 ± 0,5

Так как основной целью исследования являлась разработка технологии высокой очистки растворов  $^{68}\text{Ga}$  от неизотопных носителей, на основании литературных данных по ионному обмену в среде HCl – ацетон ряда химических элементов [115,71,99,98,100], было принято решение не использовать в работе растворы с концентрацией соляной кислоты 3 М: при использовании растворов с концентрацией кислоты  $\geq 3$  М начинается заметная десорбция с катионообменной смолы ряда неизотопных носителей, сорбированных ранее на ней, главным образом алюминия).

Поскольку коэффициенты распределения при анионном обмене  $^{68}\text{Ga}$   $D_g^{an}$  пусть и дают возможность эффективного выделения  $^{68}\text{Ga}$  в выбранных параметрах среды, но всё-таки на порядки отличаются (ниже) от коэффициентов для катионного обмена  $D_g^{cat}$ , то такие параметры как масса смолы и скорость потока в случае анионного обмена в динамических условиях играют более значительную роль, чем в катионном обмене.

Экспериментальные данные по сорбции  $^{68}\text{Ga}$  на анионите Dowex AG 1×8 в динамических условиях для различных составов раствора и массы смолы в колонке (скорость потока – 1 мл/мин) – Таблица 28 – показывают, что эффективный перенос  $^{68}\text{Ga}$  с катионита на анионит может быть осуществлён при использовании элюента состава 2,0–2,5 М HCl (40 ± 5 об. % ацетона) при достаточном количестве анионообменной смолы ( $\geq 40$  мг) в колонке.

Таблица 28 – Сорбция  $^{68}\text{Ga}$  на анионите Dowex AG 1×8 в динамических условиях для различных составов раствора и массы смолы

Масса анионита, мг	Состав раствора		
	2,0 М HCl	2,5 М HCl	
	40%	30%	40%
<b>10</b>	65,4 ± 0,7	76,4 ± 0,9	94,5 ± 0,9
<b>20</b>	94,5 ± 1,2	93,5 ± 0,9	96,7 ± 1,1
<b>40</b>	97,8 ± 0,8	96,1 ± 0,8	98,1 ± 1,1

Влияние прямых кинетических параметров, а именно скорости потока раствора, на эффективность сорбции  $^{68}\text{Ga}$  на анионообменной смоле также было изучено – Таблица 29.

Таблица 29 – Сорбция  $^{68}\text{Ga}$  на анионите в зависимости от скорости потока раствора

Скорость потока, мл/мин	Масса смолы, мг		
	10	20	40
<b>250</b>	97,9 ± 0,1	98,9 ± 0,4	99,2 ± 0,2
<b>500</b>	96,3 ± 0,4	98,7 ± 0,7	98,9 ± 0,1
<b>1000</b>	94,5 ± 0,9	96,7 ± 1,1	98,1 ± 1,1

Для десорбции  $^{68}\text{Ga}$  с анионита применяли 0,1 М HCl. В ходе экспериментов было установлено, что при элюировании смолы раствором 0,1 М HCl можно добиться эффективной (~ 90 %) десорбции  $^{68}\text{Ga}$ , однако, часть  $^{68}\text{Ga}$  (от 7 до 12 %) необратимо сорбировалась на смоле. Вероятно, это связано с изменением внутренней структуры смолы в процессе прохождения через неё HCl–ацетоновой среды;  $^{68}\text{Ga}$  при этом мог необратимо адсорбироваться в матрице смолы, без участия активных групп. Наиболее простым решением данной проблемы было проведение исследований по сорбционному поведению  $^{68}\text{Ga}$  в динамических условиях на анионообменных смолах одного класса, но с различным содержанием дивинилбензола в матрице (различной

степенью «сшивки») – Таблица 30 (влияние степени сшивки на эффективность и обратимость ионообменных процессов было продемонстрировано в работе [116], а также влияние степени сшивки на эффективность десорбции  $^{68}\text{Ga}$  прослеживается из данных работы [84]).

Таблица 30 – Десорбция  $^{68}\text{Ga}$  (%) раствором 0,1 М HCl с анионита с различным содержанием дивинилбензола в динамических условиях (скорость потока – 1 мл/мин)

Масса смолы, мг	Dowex AG 1		
	×8	×4	×2
10	89,3 ± 1,1	94,7 ± 0,8	99,5 ± 0,1
20	89,5 ± 0,8	95,2 ± 0,2	99,1 ± 0,3
40	87,3 ± 1,2	92,1 ± 0,4	99,0 ± 0,3

Таким образом, более полной десорбции  $^{68}\text{Ga}$  с анионообменной смолы можно достичь при использовании смолы с низким относительным содержанием дивинилбензола.

Кривые элюирования колонки Ø 2 мм, содержащей 40 мг анионита Dowex AG 1×2, на различных скоростях показывают, что всю сорбированную на смоле активность можно сконцентрировать в 300 µл элюата (элюент – 0,1 М HCl) – Рисунок 53.

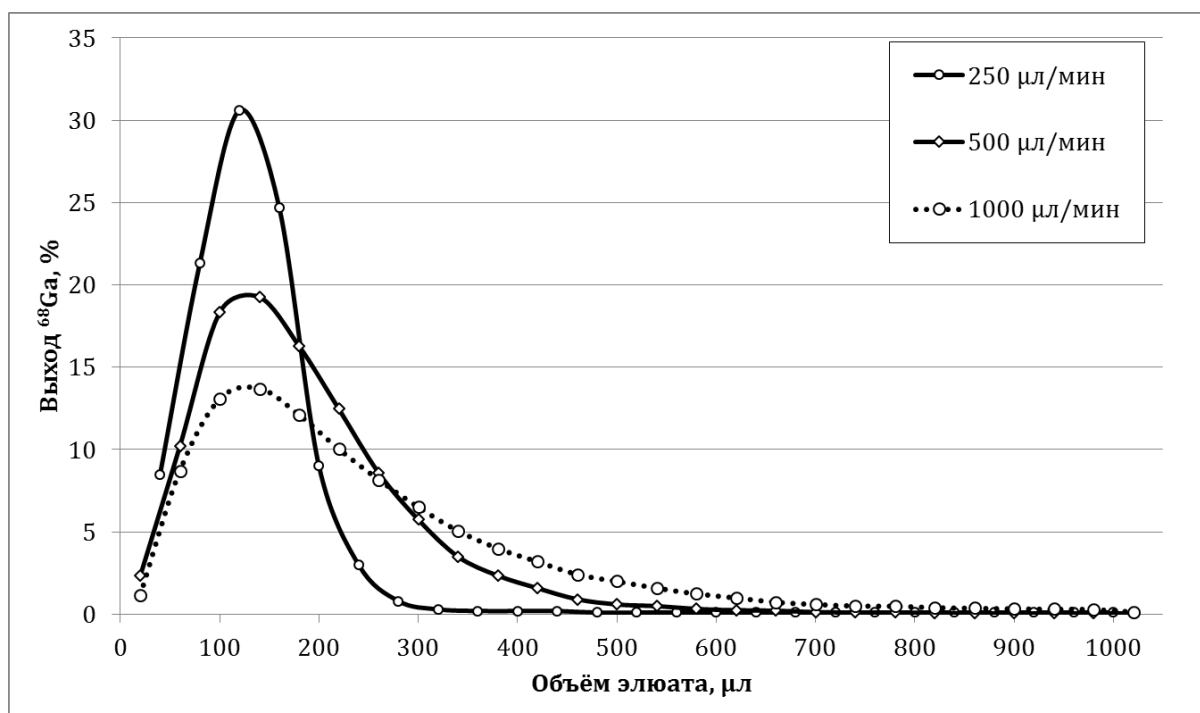


Рисунок 53 – Кривые элюирования колонки Ø 2 мм, содержащей 40 мг анионита Dowex AG 1×2, при различных скоростях потока

Достаточным количеством 0,1 М HCl для элюирования  $^{68}\text{Ga}$  с анионита является 1мл. Важно отметить, что для десорбции  $^{68}\text{Ga}$  с анионообменной смолы может быть использована соляная кислота с концентрацией от 0,01 до 0,1 М с одинаковой эффективностью: при десорбции  $^{68}\text{Ga}$  с анионообменной смолы (колонка Ø 2 мм, содержащая 40 мг анионита Dowex AG 1×2; объём элюента – 1 мл, скорость потока 1 мл/мин) растворами соляной кислоты 0,01 М, 0,02 М, 0,05 М и 0,1 М эффективность десорбции одинакова в рамках погрешности –  $99,0 \pm 0,7 \%$ .

Экспериментальные данные показывают, что:

1. эффективная сорбция  $^{68}\text{Ga}$  из элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  в динамических условиях может быть достигнута уже при небольших количествах катионита (20 мг) и при значительных скоростях потока (1-5 мл/мин);
2. эффективный перенос  $^{68}\text{Ga}$  с катионита на анионит может быть осуществлён при использовании в качестве элюента раствора состава 2,0–2,5 М HCl ( $40 \pm 5$  об. % ацетона);
3. эффективность сорбции  $^{68}\text{Ga}$  на анионите тем выше, чем ниже скорость потока и чем большее количество смолы находится в колонке;
4. элюирование анионообменной смолы раствором 0,1 М HCl позволяет добиться эффективной десорбции  $^{68}\text{Ga}$ ; сорбированная ранее активность может быть практически количественно сконцентрирована в 300 µл элюата;
5. наилучшие результаты получены для анионообменной смолы с низким процентным содержанием дивинилбензола.

#### **4.2 Технология кондиционирования элюата генератора $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ комбинированным катионо-анионным обменом в среде соляная кислота – ацетон**

Многочисленные литературные данные по выделению химических элементов методом ионного обмена свидетельствуют о том, что добиться высокой химической чистоты раствора  $^{68}\text{Ga}$  без промывки катионита после пропускания через него исходного раствора будет невозможно. Исходя из полученных коэффициентов распределения  $^{68}\text{Ga}$   $D_g^{cat}$  и  $D_g^{an}$ , а также литературных данных по ионному обмену в среде HCl – ацетон других химических элементов [73,101,100], для промывки катионита был выбран раствор состава 0,5 М HCl (50 об. % ацетона).

На колонке с анионитом после сорбции  $^{68}\text{Ga}$  возможно присутствие остаточной 2,0-2,5 М HCl, что может повлиять на кислотность конечного раствора, особенно если

активность будет сконцентрирована в малом объёме. В ходе исследований было установлено, что *удалить остаточную кислоту с анионита (а также следы ацетона) возможно промывкой этиловым спиртом 95 % без потерь  $^{68}\text{Ga}$* . Остаточные количества этилового спирта могут быть легко удалены продувкой колонки со смолой сжатым воздухом или инертным газом. Все вышеперечисленные этапы складываются в схему полного цикла процесса очистки и концентрирования элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  – Рисунок 54.

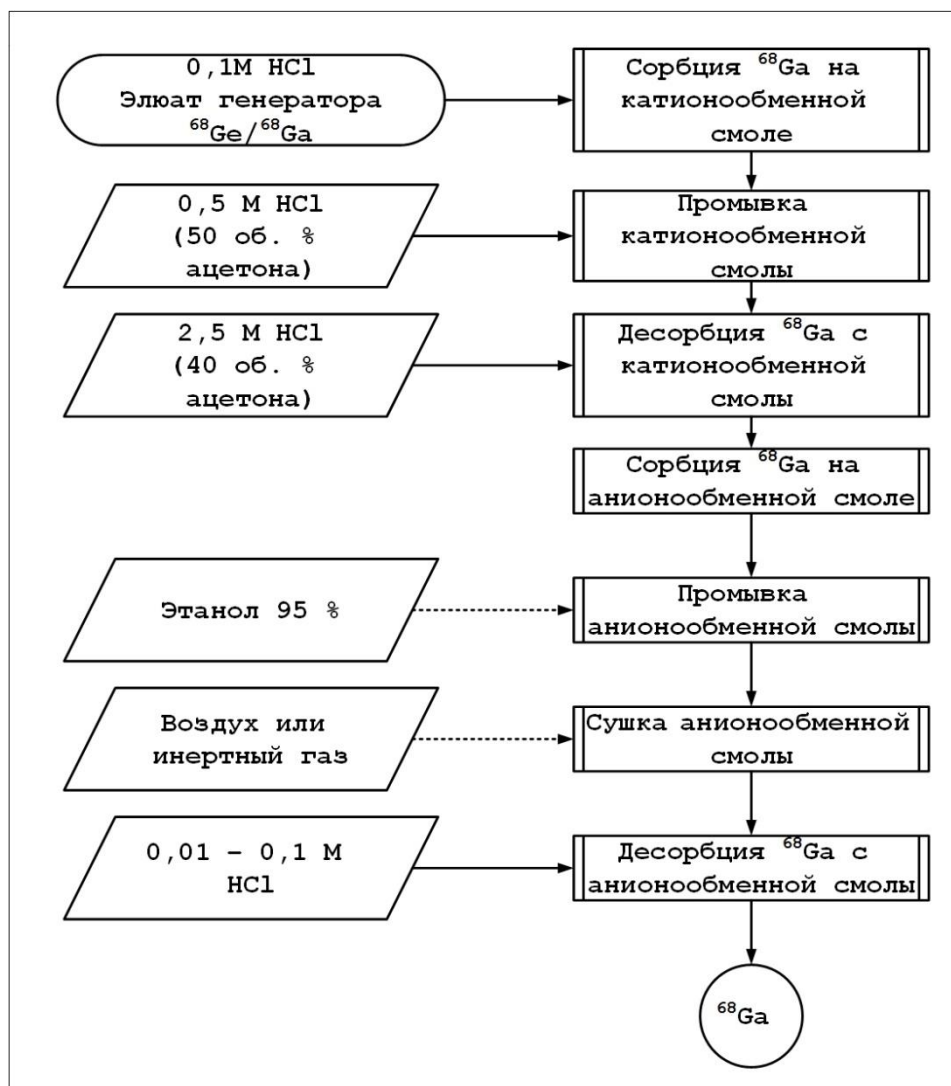


Рисунок 54 – Блок-схема процесса очистки и концентрирования элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$

Эффективность стадий процесса по выделению  $^{68}\text{Ga}$  (Таблица 31) показывает, что суммарный радиохимический выход процесса по  $^{68}\text{Ga}$  с поправкой на распад составляет  $95,5 \pm 2,3 \%$ .



Таблица 31 – Характеристики эффективности стадий процесса по  $^{68}\text{Ga}$  (%)

Стадия процесса	Эффективность стадии (% $^{68}\text{Ga}$ )	Потери (% $^{68}\text{Ga}$ )
Адсорбция $^{68}\text{Ga}$ на катионообменной смоле	$99,1 \pm 0,6$	$0,9 \pm 0,6$
Промывка катионообменной смолы		$0,2 \pm 0,1$
Десорбция $^{68}\text{Ga}$ с катионообменной смолы	$98,7 \pm 0,9$	$1,3 \pm 0,9$
Адсорбция $^{68}\text{Ga}$ на анионообменной смоле	$98,9 \pm 0,4$	$1,1 \pm 0,4$
Промывка анионообменной смолы		$0,1 \pm 0,05$
Десорбция $^{68}\text{Ga}$ с анионообменной смолы	$99,1 \pm 0,3$	$0,9 \pm 0,3$

Время полного процесса кондиционирования элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  составляет 10-15 мин.

Для оценки эффективности процесса по очистке от неизотопных носителей и материнского  $^{68}\text{Ge}$  были проведены эксперименты по количественному анализу катионов металлов в исходном (до очистки) и конечном (после очистки) растворах, а также во всех рабочих растворах на каждой стадии процесса. Эксперименты проводили как на модельном растворе (растворе смеси хлоридов металлов в 0,1 М HCl – Таблица 32), так и на реальных элюатах генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  (Таблица 33).

Таблица 32 – Результаты количественного анализа металлов в исходном (до очистки) и конечном (после очистки) растворах – модельный эксперимент

Элемент		Содержание в растворе, $\mu\text{г}/\text{л}$ (ppb)		Качества
		до очистки	после очистки	
Алюминий	Al	14000	20	700
Титан	Ti	18000	59	305
Хром	Cr	7700	250	31
Марганец	Mn	7600	18,2	418
Никель	Ni	16000	9,5	1684
Медь	Cu	15000	467,6	32
Цинк	Zn	9500	30	317
<b>Германий</b>	<b>Ge</b>	<b>2000</b>	<b>0,13</b>	<b>15385</b>
Цирконий	Zr	11000	1,6	6875
Кадмий	Cd	13000	30,6	425
Индий	In	5600	0,4	14000
Олово	Sn	7900	320,7	25
Свинец	Pb	9500	4	2375
<b>Галлий</b>	<b>Ga</b>	<b>18000</b>	<b>17350</b>	

Таблица 33 – Результаты количественного анализа металлов в элюате генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  и растворе  $^{68}\text{Ga}$ , полученного по описываемой технологии

Элемент	Содержание в исходном элюате, $\mu\text{г}/\text{л}$	Содержание в очищенном растворе, $\mu\text{г}/\text{л}$
Zn	5247	16
Fe	3951	12
Cu	834	5
Ti	218	2
Al	681	6
Ni	480	5
Cr	690	4
$^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ , % <sup>1</sup>	$3,2 \times 10^{-3}$	$1,8 \times 10^{-7}$

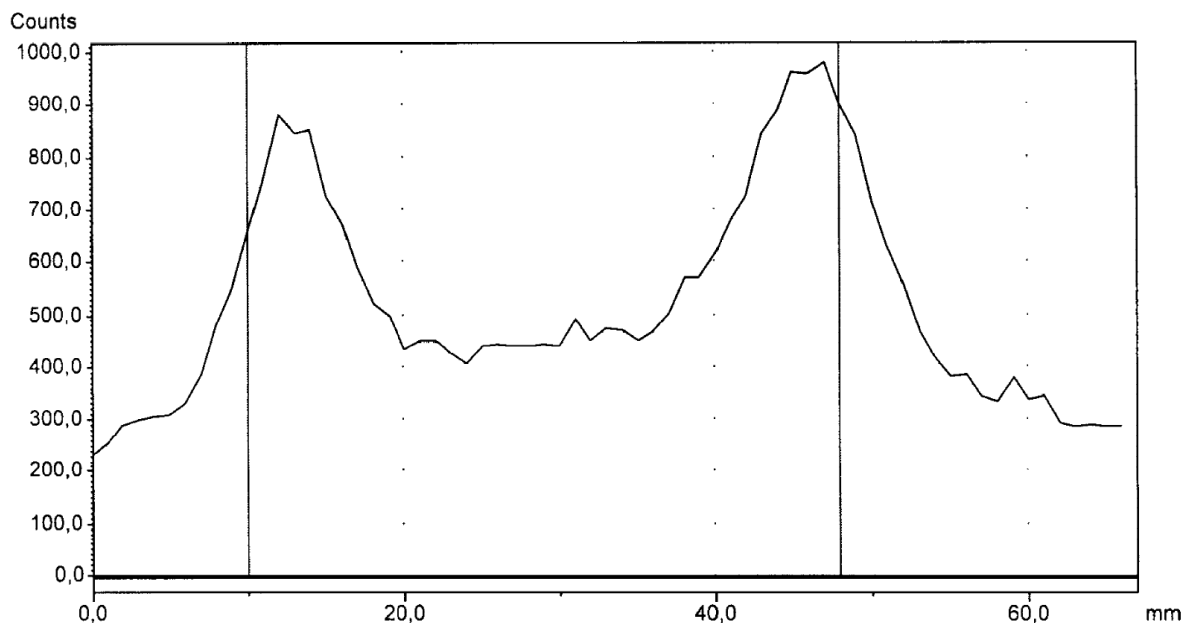
Экспериментальные данные показывают высокую эффективность процесса по очистке от разнообразных примесей металлов. Концентрация примесных катионов в растворе может быть снижена минимум на два порядка. Примесь материнского  $^{68}\text{Ge}$  также может быть снижена минимум на 4 порядка.

Для оценки пригодности разработанной технологии для синтеза радиофармацевтических препаратов надлежащего качества была проведена серия экспериментов по синтезу DOTA-конъюгированного производного октреотида (DOTA-TATE).

Радиохроматограммы препаратов  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE, полученных с использованием элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  и кондиционированного по разработанной технологии раствора  $^{68}\text{Ga}$  показывают, что применение процессов очистки и концентрирования элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  позволяет существенным образом повысить инкорпорирование  $^{68}\text{Ga}$  в молекулы БХА-конъюгированных прекурсоров и, соответственно, получить радиофармацевтический препарат с высокой радиохимической чистотой – Рисунок 55.

<sup>1</sup> Определение содержания  $^{68}\text{Ge}$  в исходном элюате и очищенном растворе проводили радиометрическим методом

I.



II.

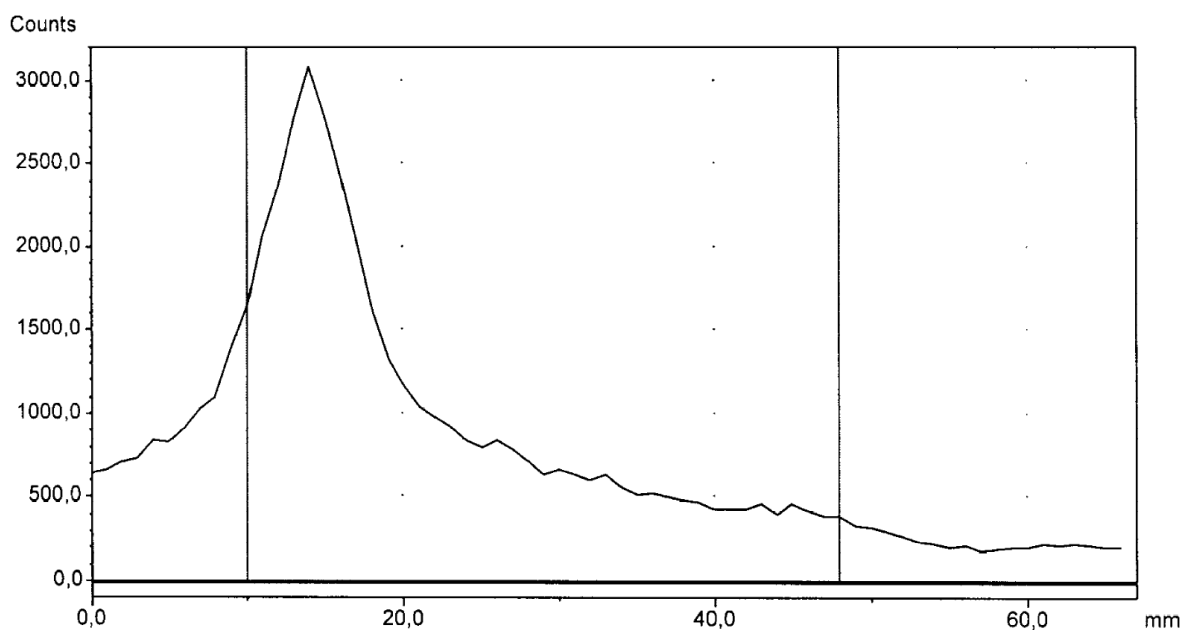


Рисунок 55 – Хроматограммы реакционной смеси при проведении реакции мечения DOTA-TATE с исходным элюатом генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  (I) и кондиционированным раствором  $^{68}\text{Ga}$  (II)

Радиохимическая чистота  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE, полученного с использованием кондиционированного раствора  $^{68}\text{Ga}$ , в ходе проведённых исследований составляла  $98,1 \pm 1,4\%$  ( $n = 50$ ). Таким образом, экспериментально доказана пригодность концентрированного и очищенного раствора  $^{68}\text{Ga}$ , получаемого по разработанной технологии, для синтеза РФП надлежащего качества.

Разработанная технология была защищена Патентом РФ RU 2464043 C1 [117] (Приложение Б).

### **4.3 Исследование ионообменного поведения $^{68}\text{Ga}$ в среде соляная кислота – этанол в динамических условиях**

В предыдущем разделе была описана технология очистки и концентрирования элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  комбинированным катионо-анионным обменом в среде соляная кислота – ацетон. Технология показала свою высокую эффективность по выделению и концентрированию  $^{68}\text{Ga}$ , очистке от неизотопных носителей и радионуклидной примеси  $^{68}\text{Ge}$ , а также пригодность для синтеза радиофармацевтических препаратов с высокой радиохимической чистотой. Однако, технология имеет ряд недостатков, главным из которых является использование ацетона. Как уже говорилось ранее (1.8), наличие ацетона в рабочих растворах приводит к крайне непродолжительному сроку годности этих растворов ввиду наличия альдольно-кетоновой конденсации между соляной кислотой и ацетоном, что препятствует серийному производству этих растворов и, как следствие, снижает доступность данной технологии для применения в повседневной медицинской практике широким кругом лечебно-диагностических учреждений. Содержание ацетона, как остаточного органического растворителя в РФП, строго контролируется Фармакопеей, что неминуемо ведёт к необходимости осуществления дополнительных аппаратурно сложных методов анализа (газовая хроматография) во время контроля качества готового РФП. Несмотря на то, что технология гарантирует отсутствие ацетона в готовом препарате, отношение врачей (работников сферы здравоохранения) к ацетону при изготовлении препаратов в целом весьма негативное. Поэтому было предпринято решение по разработке технологии очистки и концентрирования элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  с использованием более подходящего органического растворителя – этанола. Экспериментальные данные по изучению ионообменного поведения  $^{68}\text{Ga}$  в среде соляная кислота – этанол в статических условиях позволяют сделать вывод, о возможности эффективного переноса  $^{68}\text{Ga}$  с катионообменной смолы на анионообменную с использованием растворов соляная кислота – этанол аналогично растворам соляная кислота – ацетон.

Для исключения трудностей, связанных с необратимыми потерями  $^{68}\text{Ga}$  на ионообменной смоле, возникших в предыдущих исследованиях, работы с растворами соляной кислоты и этанола проводили на ионообменных смолах с низким процентным содержанием дивинилбензола (2 %).

Поскольку процессы сорбции  $^{68}\text{Ga}$  на катионообменной смоле в динамических условиях из растворов 0,1 М HCl уже были изучены и описаны ранее, в дальнейших

исследованиях была оценена эффективность десорбции  $^{68}\text{Ga}$  с катионообменной смолы и сорбции на анионообменной смоле в динамических условиях при использовании растворов с концентрацией соляной кислоты 1,75-2,5 М HCl и объёмным содержанием этанола от 40 до 70 % (на основании коэффициентов распределения  $^{68}\text{Ga}$  при ионном обмене в статических условиях для среды соляная кислота – этанол) – Таблица 34 и Таблица 35 соответственно.

Таблица 34 – Десорбция  $^{68}\text{Ga}$  (%) с катионита в динамических условиях в зависимости от состава элюента (Dowex AG 50W × 2, 40 мг, колонка 50 × Ø2,1 мм, скорость потока 1 мл/мин)

Содержание этанола, об. %	С <sub>HCl</sub> , М			
	1,75	2,0	2,25	2,5
40	-	-	78,4 ± 0,7	79,5 ± 1,4
50	53,9 ± 1,3	66,8 ± 1,7	79,7 ± 1,2	88,5 ± 1,7
60	64,5 ± 1,5	85,1 ± 1,1	93,8 ± 0,7	97,8 ± 1,5
70	95,4 ± 0,8	96,5 ± 1,3	96,7 ± 0,4	-

Таблица 35 – Сорбция  $^{68}\text{Ga}$  (%) на анионите в динамических условиях в зависимости от состава элюента (Dowex AG 1 × 2, 40 мг, колонка 100 × Ø2,1 мм, скорость потока 1 мл/мин)

Содержание этанола, об. %	С <sub>HCl</sub> , М			
	1,75	2,0	2,25	2,5
40	-	-	82,5 ± 1,5	89,8 ± 1,9
50	81,8 ± 1,9	89,6 ± 1,7	97,3 ± 1,1	98,1 ± 1,2
60	92,8 ± 1,4	96,9 ± 0,3	95,2 ± 0,7	96,3 ± 0,5
70	86,3 ± 0,7	82,6 ± 1,3	81,3 ± 1,7	-

Из экспериментальных данных видно, что наиболее эффективный перенос  $^{68}\text{Ga}$  с катионита на анионит может быть достигнут при использовании раствора с концентрацией соляной кислоты 2,0-2,5 М и объёмным содержанием этанола 50-60 об. %.

Наши предыдущие экспериментальные данные позволяют сделать следующий вывод: эффективность переноса  $^{68}\text{Ga}$  с катионообменной смолы на анионообменную смолу в среде соляная кислота–органический растворитель тем выше, чем ниже скорость потока используемого элюента, при этом десорбция с катионообменной смолы тем выше, чем меньше смолы находится в колонке, а адсорбция на

анионообменной смоле тем выше, чем большее количество смолы находится в колонке. Влияние этих факторов на эффективность сорбции-десорбции  $^{68}\text{Ga}$  было изучено и для среды соляная кислота – этанол – Таблица 36.

Таблица 36 – Влияние скорости потока и количества ионообменной смолы на эффективность сорбции-десорбции  $^{68}\text{Ga}$  (%) в динамических условиях (колонка  $\varnothing 2,1$  мм; раствор 2,5 М HCl 50 об. % этанола)

Скорость потока, мл/мин	Десорбция $^{68}\text{Ga}$ с катионообменной смолы Dowex 50W $\times$ 2, %		Сорбция $^{68}\text{Ga}$ на анионообменной смоле Dowex 1 $\times$ 2, %	
	40 мг	20 мг	40 мг	20 мг
	<b>1</b>	88,5 $\pm$ 1,7	90,5 $\pm$ 1,3	98,1 $\pm$ 1,2
<b>0,5</b>	92,1 $\pm$ 1,7	98,5 $\pm$ 0,9	98,7 $\pm$ 0,7	93,1 $\pm$ 0,9
<b>0,25</b>	98,2 $\pm$ 1,3	99,0 $\pm$ 0,5	99,1 $\pm$ 0,7	97,9 $\pm$ 0,6

Эффективность же десорбции  $^{68}\text{Ga}$  с анионообменной смолы водным раствором соляной кислоты (0,01 – 0,1 М HCl) была изучена ранее – Таблица 30 и Рисунок 53.

#### **4.4 Технология кондиционирования элюата генератора $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ комбинированным катионо-анионным обменом в среде соляная кислота – этанол**

Как и в случае с ацетоном, исходя из полученных коэффициентов распределения  $^{68}\text{Ga}$   $D_g^{cat}$  и  $D_g^{an}$ , а также литературных данных по ионному обмену в среде HCl – этанол других химических элементов [101], для промывки катионита с целью более эффективной очистки от неизотопных носителей был выбран раствор состава 0,5 М HCl (70 об. % этанола). Для удаления остаточной кислоты с анионообменной смолы также использовали этиловый спирт 95 %. Найденные условия, применённые к уже проработанным этапам выделения  $^{68}\text{Ga}$  складываются в новую схему полного цикла процесса очистки и концентрирования элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  – Рисунок 56.

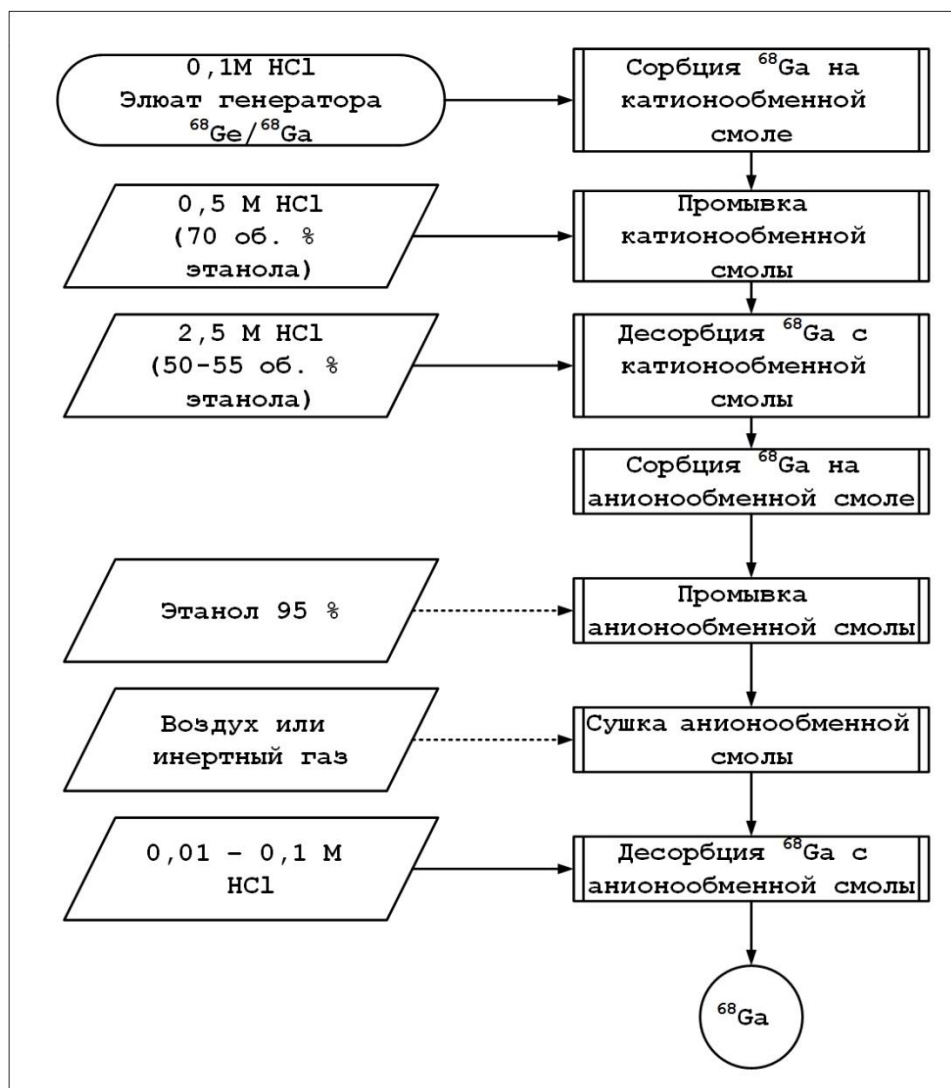


Рисунок 56 – Блок-схема процесса очистки и концентрирования элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$

Оценка эффективности стадий процесса по выделению  $^{68}\text{Ga}$  (Таблица 37) показывает, что радиохимический выход процесса по  $^{68}\text{Ga}$  с поправкой на распад составляет  $95,09 \pm 2,81 \%$ .

Таблица 37 – Характеристики эффективности стадий процесса по  $^{68}\text{Ga}$  (%)

Стадия процесса	Эффективность стадии (% $^{68}\text{Ga}$ )	Потери (% $^{68}\text{Ga}$ )
Адсорбция $^{68}\text{Ga}$ на катионообменной смоле	$99,1 \pm 0,6$	
Промывка катионообменной смолы		$0,2 \pm 0,1$
Десорбция $^{68}\text{Ga}$ с катионообменной смолы	$98,5 \pm 0,9$	
Адсорбция $^{68}\text{Ga}$ на анионообменной смоле	$98,7 \pm 0,7$	
Промывка анионообменной смолы		$0,1 \pm 0,05$
Десорбция $^{68}\text{Ga}$ с анионообменной смолы	$99,0 \pm 0,3$	

Время полного процесса кондиционирования элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  составляет 10-15 мин.

Экспериментальные данные по количественному анализу катионов металлов в исходном (до очистки) и конечном (после очистки) растворах, а также во всех рабочих растворах на каждой стадии процесса, полученных как на модельном растворе (растворе смеси хлоридов металлов в 0,1 М HCl – Таблица 38), так и на реальных элюатах генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  (Таблица 39), показывают, что концентрация примесных катионов в растворе может быть снижена в среднем на два-три порядка, а примесь материнского  $^{68}\text{Ge}$  также может быть снижена минимум на 5 порядков.

Таблица 38 – Результаты количественного анализа металлов в исходном (до очистки) и конечном (после очистки) растворах – модельный эксперимент

Элемент		Содержание в растворе, $\mu\text{г}/\text{л}$ (ppb)		Качество
		до очистки	после очистки	
Алюминий	Al	34 615	34,4	1 006
Титан	Ti	8 673	3,1	2 814
Железо	Fe	23 022	15,5	1 489
Медь	Cu	49 285	4,5	10 894
Цинк	Zn	338 797	41,7	8 117
<b>Германий</b>	<b>Ge</b>	<b>4 046</b>	<b>0,2</b>	<b>18 294</b>
Цирконий	Zr	13,1	0,1	261
Индий	In	15 276	0,3	45 723
Свинец	Pb	25 151	0,8	31 459
<b>Галлий</b>	<b>Ga</b>	<b>300</b>	<b>291</b>	



Таблица 39 – Результаты количественного анализа металлов в элюате генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  и растворе  $^{68}\text{Ga}$ , полученном по описываемой технологии

Элемент		Содержание в растворе, $\mu\text{г/л}$	
		до очистки	после очистки
алюминий	Al	286,5	5,5
титан	Ti	1 187,6	1,8
хром	Cr	14,5	0,01
марганец	Mn	6,9	<3
железо	Fe	183,9	<10
кобальт	Co	5,2	<0,07
никель	Ni	6,4	0,3
медь	Cu	19,3	0,6
цинк	Zn	5 132,0	<10
галлий	Ga	3,8	3,6
германий	Ge	0,5	н/о
цирконий	Zr	3 028,0	<0,01
олово	Sn	0,3	<0,01
свинец	Pb	278,0	2,8
уран	U	0,051	<0,003
германий	$^{68}\text{Ge}$	$3,2 \times 10^{-3}$	$1,3 \times 10^{-8}$

Экспериментальные данные по синтезу РФП на основе различных БХА-конъюгированных пептидов с использованием кондиционированного раствора  $^{68}\text{Ga}$ , полученного по описываемой технологии, говорят о пригодности технологии для синтеза РФП надлежащего качества (Таблица 40).

Таблица 40 – Результаты синтеза РФП из различных прекурсоров на основе БХА-конъюгированных пептидов

Прекурсор	DOTA-TATE	DOTA-TOC	DTPA-TOC	NODAGA-RGD	DOTA-Lys- $\alpha$ -октреотид	DOTA-Lys- $\omega$ -октреотид
<b>Кол-во синтезов</b>	50	40	20	40	50	50
<b>РХЧ, %</b>	$98,2 \pm 1,5$	$97,7 \pm 1,1$	$96,7 \pm 0,8$	$97,5 \pm 1,5$	$98,7 \pm 1,0$	$97,1 \pm 0,9$

В ходе отработки технологии была проведена серия ( $n = 30$ ) синтезов радиофармацевтического препарата  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATATE (из готовых лиофилизированных композиций) с контролем основных фармакопейных параметров – Таблица 41.

Таблица 41 – Результаты контроля основных фармакопейных параметров РФП, приготовленных на основе кондиционированного раствора  $^{68}\text{Ga}$

Параметр	Результат
Внешний вид	Прозрачная бесцветная жидкость без посторонних частиц
Объём	$1,0 \pm 0,05$ мл
рН	$4 \div 5$
РХЧ, % (ТСХ)	$> 95 (98,1 \pm 1,1)$
РХЧ, % (ВЭЖХ)	$> 95 (97,3 \pm 1,3)$
Этанол (об. %)	$< 0,05 (0,03 \pm 0,01)$
Стерильность	Стерильно
Содержание $^{68}\text{Ge}$ , ( $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ ) %	$1,5 \times 10^{-8}$
Бактериальные эндотоксины	$< 3$ МЕ/мл

Экспериментальные данные говорят о соответствии полученных РФП требованиям качества нормативной документации и их полной пригодности для клинического применения.

Разработанная технология была защищена патентом РФ RU 2522892 C1 [118] (Приложение В).

## **Глава 5. Автоматизация технологии кондиционирования элюата генератора $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ комбинированным катионо-анионным обменом в среде соляная кислота – этанол**

Необходимость автоматизации процессов синтеза РФП в условиях повседневной медицинской практики была описана ранее (1.9).

Для автоматизации процесса кондиционирования элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  по разработанной технологии был выбран кассетный модуль Modular-Lab PharmTracer (Eckert & Ziegler Eurotop GmbH) – Рисунок 57. ModularLab сочетает легкость программирования через графический пользовательский интерфейс с полным соответствием стандартам GMP, GAMP (Good Automated Manufacturing Practice) 4 / 5 и 21 CFR (стандарт FDA) часть 11. Контроль доступа осуществляется посредством четырёх отдельных уровней обеспечения безопасности. Протоколирование всех системных и пользовательских операций выполняется с помощью полностью автоматизированной системы внутреннего аудита.

### **Общие характеристики ModularLab:**

- Полностью автоматизированный процесс синтеза, нет необходимости вмешательства пользователя.
- Встроенный тест по перепаду давления для проверки целостности встроенного фильтра и герметичности системы (применяется сжатый азот или гелий).
- Предварительно утверждённый процесс для стандартизированного и воспроизводимого синтеза.
- Модуль содержит необходимые средства детектирования (датчик активности, датчик температуры) для осуществления мониторинга процесса, включая документирование всех технологических параметров и функций.
- Система поддерживает возможность модульного расширения для дальнейшего применения.



Рисунок 57 – Внешний вид автоматизированного модуля синтеза ModularLab PharmTracer

В соответствии со всеми стандартами качества надлежащей производственной практики для синтеза радиофармацевтических препаратов в модуле используются стерильные одноразовые кассеты, исключая возможность перекрёстного и бактериального загрязнения получаемых радиофармацевтических препаратов.

Важным фактом, повлиявшим на выбор данного модуля для решения задач, поставленных в рамках настоящей работы, является то, что на сегодняшний день автоматизированный модуль ModularLab PharmTracer производства Eckert&Ziegler Eurotope GmbH (Германия) в комплекте с радионуклидным генератором  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  (ЗАО «Циклотрон») зарегистрирован на территории РФ как изделие медицинского назначения:

Уникальный номер реестровой записи:	017399
Реестровая запись	
Регистрационный номер медицинского изделия:	ФСР 2012/13966
Дата государственной регистрации медицинского изделия:	22.10.2012
Срок действия регистрационного удостоверения:	Бессрочно
Наименование медицинского изделия:	Система $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ генераторная вспомогательная для диагностики методом ПЭТ по ТУ 9452-001-07545903-2011
Наименование организации-заявителя медицинского изделия:	ОАО "В/О "Изотоп"
Место нахождения организации-заявителя медицинского изделия:	119435, Россия, г. Москва, ул. Погодинская, д. 22
Юридический адрес организации-заявителя медицинского изделия:	119435, Россия, г. Москва, ул. Погодинская, д. 22
Наименование организации-производителя медицинского изделия или организации-изготовителя медицинского изделия:	ЗАО "Циклотрон"

Для полного цикла синтеза РФП на основе  $^{68}\text{Ga}$  в модуле используют стерильную одноразовую кассету, представляющую собой сборку из четырёх пластиковых гребёнок с тремя поворотными клапанами типа stop-cock каждая, соединённых трубками из полипропилена через разъёмы luer-lock в необходимой последовательности. Также в состав кассеты входят пластиковые и стальные иглы и фильтр-канюли спайк (для подсоединения прокалыванием сосудов с рабочими растворами и сосудов для отходов), фильтр 0,22 мкм (для осуществления стерилизующей фильтрации), картриджи с ионообменными смолами (для проведения процессов сорбции-десорбции радионуклида и, как следствие, его очистки) и т.д. Кассета упакована в вакуумированный пластиковый пакет и стерилизована радиационным методом.

Исходя из базовых возможностей модуля по перенаправлению потоков рабочих веществ, для реализации разработанной технологии процесса очистки и концентрирования элюата комбинированным катионно-анионным обменом в смешанной среде этанол-соляная кислота совместно с сотрудниками компании-производителя была разработана уникальная конструкция одноразовой кассеты, позволяющая осуществить все необходимые стадии процесса – Рисунок 58.

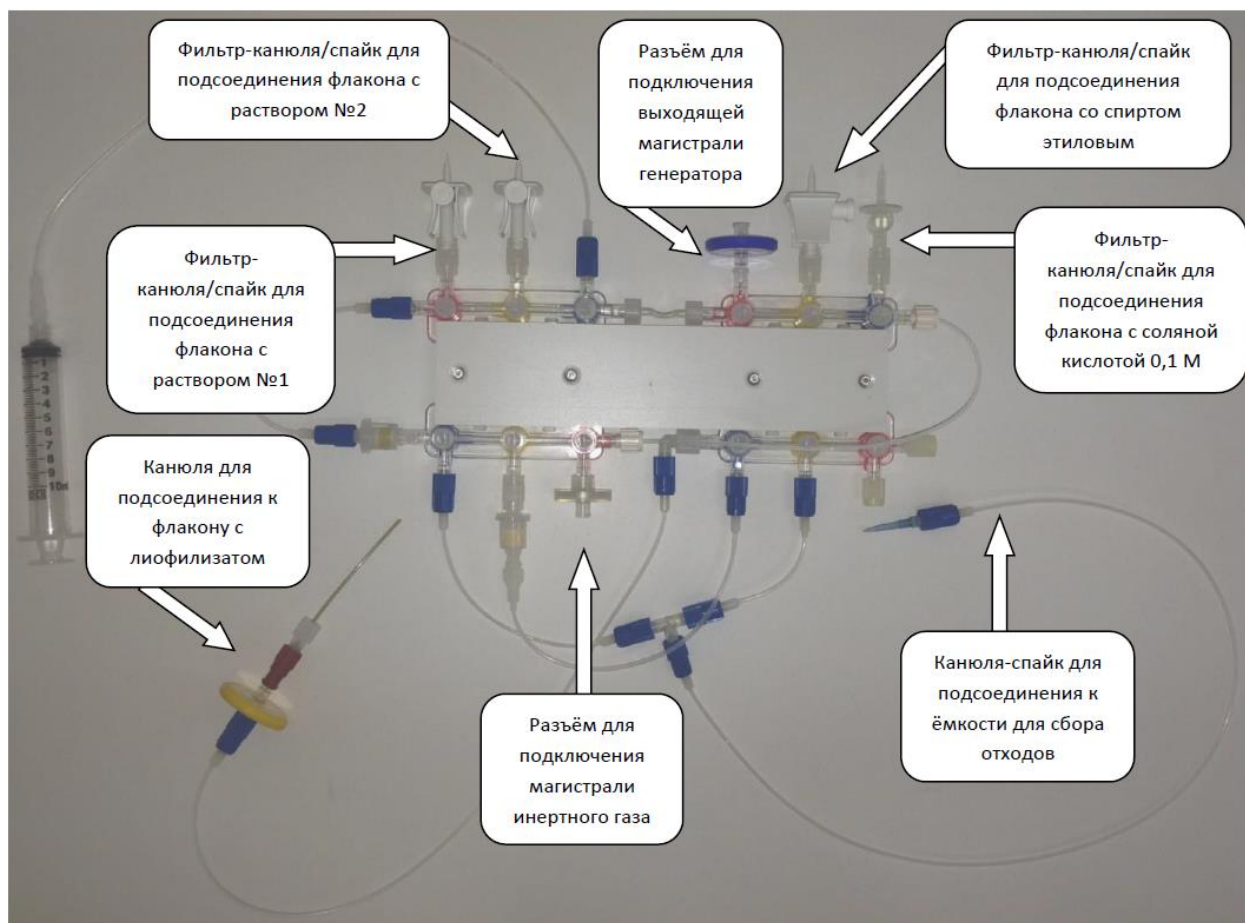


Рисунок 58 – Внешний вид разработанной одноразовой кассеты для синтеза РФП на основе  $^{68}\text{Ga}$

Комплект разработанной кассеты состоит из следующих ключевых элементов:

1. Базовая Кассета C4-00 (Eckert&Ziegler), 1 шт – Рисунок 59;
2. Шприц трёхкомпонентный 10 мл luer-lock BD, 1 шт;
3. Фильтр-канюля мини-спайк для многократного забора лекарственных средств B Braun MINI-SPIKE® IV, 4 шт;
4. Фильтр стерилизующий для жидких образцов 0,22  $\mu\text{m}$  Millipore Millex, 2 шт;
5. Фильтр стерилизующий для газов In-Line Millex Millipore, 1 шт;
6. Пластиковая игла-канюля Interlink BD, 2 шт;
7. Картридж с катионообменной смолой, 1 шт;
8. Картридж с анионообменной смолой, 1 шт.

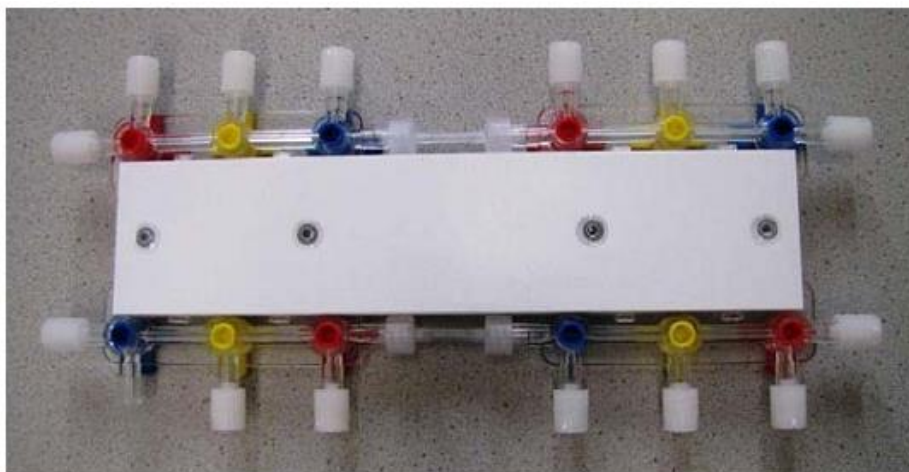


Рисунок 59 – Базовая кассета C4-00 (Eckert&Ziegler)

Для использования в кассетной технологии Eckert&Ziegler рабочие растворы, используемые в том или ином методе, должны быть расфасованы по стеклянным или пропиленовым флаконам для лекарственных средств. Флаконы с рабочими растворами должны быть завальцованы крышками с алюминиевыми колпачками с технологически подходящими септами. В данной работе нами было принято решение использовать септы типа ms-Pure. Септа ms-Pure уникальна тем, что основной материал септы – особо чистый силикон, обеспечивающий с одной стороны герметичность вальцовки флакона, с другой стороны лёгкое, эффективное (и при необходимости многократное) прокалывание металлическими или пластиковыми канюлями и иглами; при этом септа достаточно эластична и не образует микрочастиц, которые могут загрязнить раствор при её прокалывании. Помимо этого, внутренняя сторона септы имеет тонкий слой политетрафторэтилена, что предотвращает разрушение крышки при контакте с агрессивными рабочими растворами, а также предотвращает возможное загрязнение самого рабочего раствора при контакте с септой.

В соответствии с разработанной технологией очистки и концентрирования элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  необходимо использовать следующие рабочие растворы:

1. Раствор соляной кислоты 0,5 М с объёмным содержанием этанола 70% - раствор №1;
2. Раствор соляной кислоты 2,5 М с объёмным содержанием этанола 50% - раствор №2;
3. Спирт этиловый медицинский 95%;
4. Раствор соляной кислоты 0,1 М.

Исходя из кинетических и динамических характеристик используемого радиохимического процесса, а также технологических параметров модуля (включая суммарный объём коммуникаций кассеты и отдельных магистралей, а также мёртвый объём рабочих узлов кассеты), необходимый и достаточный объём рабочих растворов составляет:

1. Раствор №1 – 3 мл;
2. Раствор №2 – 3 мл;
3. Спирт этиловый медицинский 95% – 5 мл;
4. Раствор хлористоводородной кислоты 0,1 М – 8 мл.

Для рабочих растворов №1 и №2 были использованы флаконы для лекарственных средств из стеклянной трубки объёмом 5 мл, а для спирта этилового медицинского 95% и раствора хлористоводородной кислоты 0,1 М – 10 мл (Рисунок 60).



Рисунок 60 – Рабочие растворы, готовые к использованию в синтезе РФП

Для реализации автоматизированным модулем необходимой последовательности действий, предусматриваемых разработанной технологией, в виртуальной среде проведения синтеза Modular-Lab была разработана специальная программа (Рисунок 61).



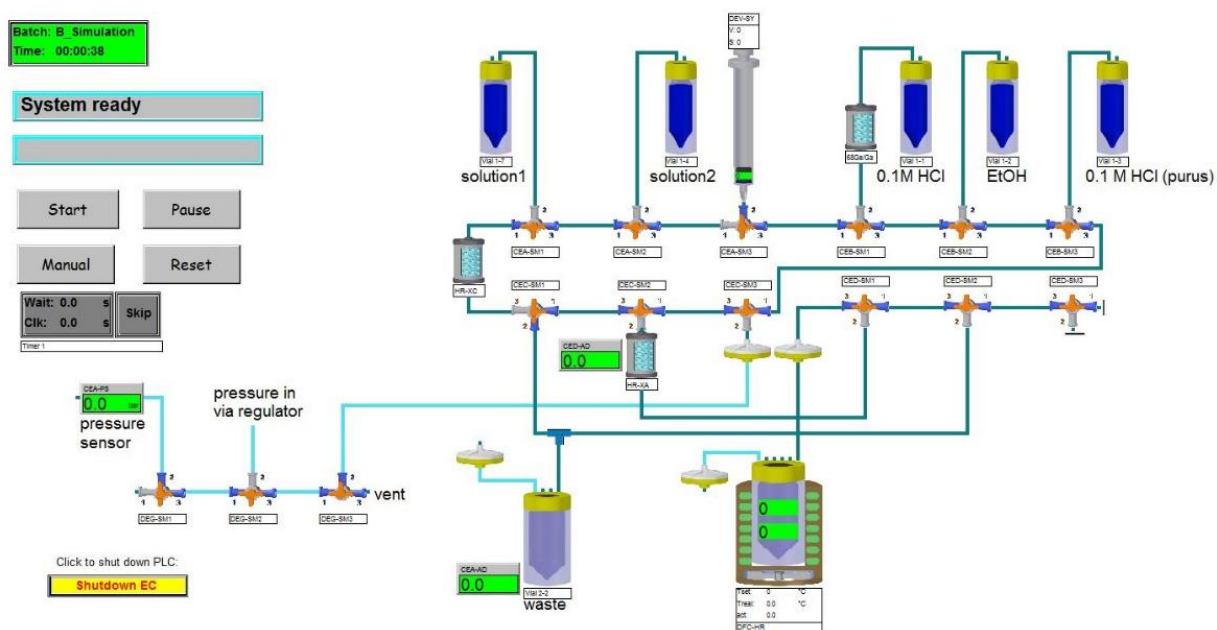


Рисунок 61 – HMI-схема разработанной программы

Первоначально были проведены исследования по возможности эффективного использования коммерчески доступных ионообменных картриджей для реализации разработанной технологии, с оценкой адекватности разработанных варианта исполнения кассеты и программы синтеза – Таблица 42.

Экспериментальные данные показали, что из опробованных коммерчески доступных картриджей наилучшие результаты по суммарному радиохимическому выходу могут быть получены при использовании картриджей Chromafix HR-XC(S) и Chromafix HR-XA(S) (Macherey-Nagel). Однако, ни одна комбинация из исследованных коммерчески доступных картриджей не позволила добиться столь же высокой эффективности выделения  $^{68}\text{Ga}$ , как при использовании колонок с насыпными ионообменными смолами Dowex и Chromalite. Выбор подходящих готовых ионообменных картриджей является отдельной технологической задачей, и исследования в данной области должны быть продолжены.

Таблица 42 – Эффективность стадий процесса по выделению  $^{68}\text{Ga}$  (%) при использовании различных ионообменных картриджей

Стадия процесса	Эффективность стадии (% $^{68}\text{Ga}$ )	Потери (% $^{68}\text{Ga}$ )
<b><i>Dowex 50W×2 и Dowex 1×2 картриджи, 100 мг (n=90)*</i></b>		
Адсорбция $^{68}\text{Ga}$ на катионообменной смоле	99,1 ± 0,6	
Промывка катионообменной смолы		0,2 ± 0,1
Десорбция $^{68}\text{Ga}$ с катионообменной смолы	98,7 ± 0,9	
Адсорбция $^{68}\text{Ga}$ на анионообменной смоле	97,9 ± 0,4	
Промывка анионообменной смолы		0,1 ± 0,05
Десорбция $^{68}\text{Ga}$ с анионообменной смолы	98,1 ± 0,7	
Радиохимический выход (% $^{68}\text{Ga}$ )	93,6 ± 2,6 %	
<b><i>Chromalite CGC50X2 и Chromalite CGA50X2 картриджи, 100 мг (n=50)*</i></b>		
Адсорбция $^{68}\text{Ga}$ на катионообменной смоле	99,1 ± 0,6	
Промывка катионообменной смолы		0,2 ± 0,1
Десорбция $^{68}\text{Ga}$ с катионообменной смолы	98,8 ± 0,7	
Адсорбция $^{68}\text{Ga}$ на анионообменной смоле	98,7 ± 0,4	
Промывка анионообменной смолы		0,1 ± 0,05
Десорбция $^{68}\text{Ga}$ с анионообменной смолы	99,1 ± 0,3	
Радиохимический выход (% $^{68}\text{Ga}$ )	96,4 ± 1,9 %	
<b><i>Chromafix HR-XC(S) и Chromafix HR-XA(S), 155 мг (n=20)</i></b>		
Адсорбция $^{68}\text{Ga}$ на катионообменной смоле	98,1 ± 0,8	
Промывка катионообменной смолы		0,9 ± 0,1
Десорбция $^{68}\text{Ga}$ с катионообменной смолы	96,7 ± 1,9	
Адсорбция $^{68}\text{Ga}$ на анионообменной смоле	97,8 ± 0,4	
Промывка анионообменной смолы		0,7 ± 0,05
Десорбция $^{68}\text{Ga}$ с анионообменной смолы	98,1 ± 1,1	
Радиохимический выход (% $^{68}\text{Ga}$ )	89,6 ± 4,2 %	
<b><i>Strata-X-C и Strata-X-A, 30 мг (n=5)</i></b>		
Адсорбция $^{68}\text{Ga}$ на катионообменной смоле	97,1 ± 0,6	
Промывка катионообменной смолы		2,2 ± 1,1
Десорбция $^{68}\text{Ga}$ с катионообменной смолы	95,7 ± 0,6	
Адсорбция $^{68}\text{Ga}$ на анионообменной смоле	0,3±0,2	
<b><i>Oasis WCX 6cc и Oasis WAX 6cc (n=5)</i></b>		
Адсорбция $^{68}\text{Ga}$ на катионообменной смоле	54,1 ± 0,6	
Промывка катионообменной смолы		1,2 ± 0,9
Десорбция $^{68}\text{Ga}$ с катионообменной смолы	93,7 ± 0,9	
Адсорбция $^{68}\text{Ga}$ на анионообменной смоле	0,9 ± 0,4	

\* В данных экспериментах были использованы самостоятельно изготовленные картриджи (навеску сухой ионообменной смолы помещали в коммерчески доступный полипропиленовый картридж (1 мл, Ø 0,9 см, Supelco) с полиэтиленовыми фриттами.

В ходе отработки технологии, для оценки пригодности автоматизированного процесса кондиционирования элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  по разработанной технологии для синтеза РФП надлежащего качества, была проведена серия (n = 10) синтезов радиофармацевтического препарата  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-ТОС (из готовых

лиофилизированных композиций) с контролем основных фармакопейных параметров – Таблица 43.

Таблица 43 – Результаты синтеза РФП  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-ТОС на автоматизированной модуле Modular-Lab PharmTracer с разработанной технологией кондиционирования элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$

Параметр	Результат
Количество синтезов	10
Радиохимический выход (% $^{68}\text{Ga}$ )	$94,1 \pm 1,1$
Внешний вид	Прозрачная бесцветная жидкость без посторонних частиц
Объём	$1,0 \pm 0,1$ мл
рН	$4 \div 5$
РХЧ, % (ТСХ)	$>95 (98,2 \pm 0,8)$
РХЧ, % (ВЭЖХ)	$>95 (97,5 \pm 1,1)$
Этанол (об. %)	$\leq 0,05 (0,04 \pm 0,01)$
Содержание $^{68}\text{Ge}$ , ( $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ ) %	$1,3 \times 10^{-8}$
Стерильность	Стерильно
Бактериальные эндотоксины	$< 3$ МЕ/мл

Экспериментальные данные говорят, во-первых, об успешном имплементировании разработанной технологии в автоматизированный модуль синтеза РФП и, во-вторых, о полной пригодности технологии для синтеза РФП на основе  $^{68}\text{Ga}$  надлежащего качества в автоматизированном режиме, и, как следствие, возможности продолжения работ по внедрению разработанной технологии в повседневную клиническую практику.

## Выводы

1. Впервые получены значения коэффициентов распределения микроконцентраций радионуклида  $^{68}\text{Ga}$  на ионообменных смолах в смешанных средах соляная кислота – органический растворитель (ацетон, этанол). Получены зависимости коэффициентов распределения от состава среды (0,1 – 3,0 М HCl; 0 – 90 об. % органического растворителя). Применение органического растворителя позволяет десорбировать  $^{68}\text{Ga}$  с катионита и сорбировать на анионите даже при низких концентрациях соляной кислоты.

2. Методами ЯМР- и XANES/EXAFS-спектроскопии для макроконцентраций галлия доказано, что добавление органического растворителя приводит к переходу октаэдрического катиона  $[\text{Ga}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$  в тетраэдрический анион  $[\text{GaCl}_4]^-$  вследствие координационной лабильности галлия. Данный переход возможен даже при крайне низких концентрациях HCl (0,1 М), но высоком объёмном содержании органического растворителя (~ 90 %).

3. Эффективная десорбция  $^{68}\text{Ga}$  с катионита с последующей сорбцией на анионите (суммарная степень извлечения не менее 98 %) возможна при использовании растворов состава 2,0-2,5 М HCl (40 ± 5 об. % ацетона или 50 ± 5 об. % этанола). На основании полученных данных разработана технология кондиционирования элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ : радиохимический выход по  $^{68}\text{Ga}$  составляет не менее 95 % (с поправкой на распад); время полного цикла – около 10-15 мин; минимальный объём конечного раствора – 300 мкл. Концентрация примесных катионов в растворе может быть снижена в среднем на 2-3 порядка, а примесь материнского  $^{68}\text{Ge}$  – минимум на 5 порядков.

4. Радиохимическая чистота препаратов, полученных с использованием кондиционированных растворов  $^{68}\text{Ga}$  и различных прекурсоров, составляет не менее 95 %. Качество полученных РФП соответствует основным фармакопейным требованиям.

5. Разработанная технология была успешно имплементирована в кассетный автоматизированный модуль синтеза РФП для применения в условиях повседневной медицинской практики (по GMP) и на сегодняшний день была применена в доклинических исследованиях ряда новых РФП, а также будет использована в дальнейшем в ходе клинических испытаний.

## **Благодарность**

Автор выражает глубочайшую благодарность своим коллегам – сотрудникам Отдела радиационных технологий медицинского назначения ФГБУ ГНЦ РФ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России за помощь и содействие в настоящей работе, особенно Клементьевой О.Е., Брускину А.Б. и Малышевой А.О.

Отдельную благодарность автор выражает Зубавичусу Я.В. (НИЦ «Курчатовский институт», XANES/EXAFS-спектроскопия), Киракосян Г.А. (ИОНХ им. Н.С. Курнакова РАН, ЯМР-спектроскопия), Рольфу Линдеру, Аннике Герик (Eckert&Ziegler Eurotop GmbH) и Тульской Т.И. (ООО «ДИАМЕД»).

Особую благодарность автор выражает своим друзьям Алесе Марук и Денису Богачёву за их всевозможную помощь и безграничную поддержку, и самое главное – своему научному руководителю Кодиной Галине Евгеньевне за её помощь, неоценимые советы, предоставленную свободу научного поиска, участие и терпение, а также за то, что однажды поверила и открыла для автора науку радиофармацевтических препаратов.

Автор приносит свои извинения за все неизбежные ошибки и неточности, допущенные им при подготовке текста данной работы.

## Список сокращений и условных обозначений

$a_w$	– активность воды;
$\beta^+$	– позитрон;
$\gamma$	– гамма-квант;
$D_g$	– равновесный массовый коэффициент распределения;
$\varepsilon$	– диэлектрическая проницаемость;
$\Delta G_t$	– свободная энергия переноса иона;
$K_n$	– константа устойчивости комплекса;
$\delta$	– 1) относительная величина набухания ионообменной смолы; 2) химический сдвиг при ЯМР;
DOTA	– 1,4,7,10-тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетрауксусная кислота
DOTA-TATE	– DOTA-D-Phe <sup>1</sup> -Tyr <sup>3</sup> -октреотат;
DOTA-TOC	– DOTA-D-Phe <sup>1</sup> -Tyr <sup>3</sup> -октреотид;
ДТРА	– диэтилентриаминпентауксусная кислота (ДТПА);
EXAFS	– анализ протяжённой тонкой структуры рентгеновского спектра поглощения;
GMP	– <i>Good Manufacturing Practice</i> (надлежащая производственная практика);
ICP	– индуктивно-связанная плазма;
NODAGA	– (1,4,7-триазациклононан-1,4-бис(уксусная кислота)-7-(2-глутаровая кислота);
NODAGA-RGD	– NODAGA-аргинилглициласпарагиновая кислота;
NOTA	– 1,4,7-триазациклононан-1,4,7-триуксусная кислота;
ppb	– миллиардная доля (мкг/л);
ppm	– миллионная доля (мг/л);
Sst	– соматостатин;
XANES	– анализ околопороговой тонкой структуры рентгеновского спектра поглощения;
БХА	– бифункциональный хелатирующий агент;
ВЭЖХ	– высокоэффективная жидкостная хроматография;
КДН	– коэффициент дифференциального накопления;
МЕ	– международная единица;
МРТ	– магнитно-резонансная томография;
НЭО	– нейроэндокринные опухоли;
ОФЭКТ	– однофотонная эмиссионная компьютерная томография;
ПЭТ	– позитронно-эмиссионная томография;
РН	– радионуклид;
РФП	– радиофармацевтический препарат;
РХЧ	– радиохимическая чистота;
ТСХ	– тонкослойная хроматография;
ФДГ	– фтордезоксиглюкоза;
ЭЗ	– электронный захват;
ЯМР	– ядерно-магнитный резонанс.

## Список литературы

1. Кодина Г.Е. и др. РАДИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ (ОФС 42-0073-07) // В кн.: Государственная Фармакопея РФ XII часть 1. Москва. 2008. С. 334-359.
2. Radiopharmaceutical Preparation (General Monograph 0125) // In: European Pharmacopoeia 7.0 Vol.1. EDQM, 2011. pp. 686-692.
3. Забродин Б.В., Ломасов В.Н., and Моторный А.В. Радионуклидные методы визуализации. Учебное пособие. Санкт-Петербург: СПбГУ, 2006.
4. Eleanore Tapscott. Nuclear Medicine Pioneer, Hal O. Anger, 1920–2005 // J. Nucl. Med. Technol. 2005. Vol. 33. pp. 250-253.
5. Peter E. Valk. Positron Emission Tomography: Basic Sciences. Springer Science, 2003.
6. Ter-Pogossian M., Phelps M. et al. A positron-emission transaxial tomograph for nuclear imaging // Radiology. 1975. Vol. 114. pp. 89-98.
7. Гранов А.М., Тютин Л.А. Позитронная эмиссионная томография. Санкт-Петербург: Фолиант, 2008.
8. Кодина Г.Е., Красикова Р.Н. Методы получения радиофармацевтических препаратов и радионуклидных генераторов для ядерной медицины. Москва: Издательский дом МЭИ, 2014.
9. Firestone R., Chu S. and Baglin C. Update to the 8th Edition of the Table of Isotopes CD-ROM. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1998.
10. Левин В.И. Получение радиоактивных изотопов. Москва: Атомиздат, 1972.
11. Левин В.И., Соколов С.В. Генератор галлия-68 // Радиохимия. 1970. Т. 12. С. 505 – 509.
12. Rösch F.  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  Generators: Past, Present and Future // In: Theranotics, Gallium-68, and Other Radionuclides / Ed. by Rösch F., Baum R. Springer, 2012. pp. 3-16.
13. Gleason G.I. A positron cow // Int. J. Appl. Radiat. Isotopes. 1960. Vol. 8. pp. 90-94.

14. Green M.W., Tucker W.D. An improved gallium-68 cow // J. Appl. Radiat. Isotop. 1961. Vol. 12. pp. 62-64.
15. Yano Y., Anger H.O. A gallium-68 positron cow for medical use // J. Nucl. Med. 1964. Vol. 5. pp. 484-487.
16. Rösch F. Maturation of a key resource - the germanium-68/gallium-68 generator: development and new insights // Curr. Radiopharm. 2012. Vol. 5. No. 3. pp. 202-211.
17. Fani M., Andre J. P., Maecke H.R. 68Ga-PET: a powerful generator-based alternative to cyclotron-based PET radiopharmaceuticals // Contrast Media Mol. Imaging. 2008. Vol. 3. No. 2. pp. 67-77.
18. Кодина ГЕ и др., "Радионуклидный генератор 68Ge/68Ga для получения физиологически приемлемого раствора," 2126271, 1998.
19. Lederer C., Shirley V., Browne E. et al. Table of Isotopes. New York: John Wiley and Sons, 1978.
20. Browne E., Firestone R. and Shirley V. Table of Radioactive Isotopes. New York: John Wiley and Sons, 1986.
21. Edwards C.L. Tumor scanning with 67Ga citrate // J. Nucl. Med. 1969. Vol. 10. No. 2. pp. 103-105.
22. Green, M.A.; Welch, M.J. Gallium radiopharmaceutical chemistry // Int. J. Rad. Appl. Instrum. 1989. Vol. 16. pp. 435 – 438.
23. Zweit J., Sharma H., Downey S. Production of gallium-66, a shortlived, positron emitting radionuclide // Int. J. Rad. Appl. Instrum. 1987. Vol. 38. pp. 499 – 501.
24. Valk P.E., Bailey D.L., Townsend D.W., Maisey M.N. Metal Radionuclides for PET Imaging // In: Positron Emission Tomography: Basic Science and Clinical Practice. London: Springer-Verlag, 2003. pp. 251 – 264.
25. Ugura O., Kotharib P.J., Finnb R.D. et al. Ga-66 labeled somatostatin analogue DOTA-DPhe1-Tyr3-octreotide as a potential agent for positron emission tomography imaging and receptor mediated internal radiotherapy of somatostatin receptor positive tumors // Nucl. Med. Biol. 2002. Vol. 29. pp. 147-157.



26. Raymond L.H. The Medical Use of Gallium Radionuclides: A Brief History With Some Comments // Semin. Nucl. Med. 1978. Vol. 8. No. 3. pp. 183 – 191.
27. Dudley H.C. et al. Deposition of radiogallium  $^{72}\text{Ga}$  in skeletal tissues // J. of Pharmacol. Exp. Ther. 1949. Vol. 96. pp. 224 – 227.
28. Rösch F. and Riss P.J. The renaissance of the  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  Radionuclide Generator Initiates New Development in  $^{68}\text{Ga}$  Radiofarmaceutical Chemistry // Current Topics in Medicinal Chemistry. 2010. Vol. 10. pp. 1633-1668.
29. Hayes R. L., Canton J. E. and Byrd B. L. Bone Scanning with Gallium-68: A Carrier Effect // J. Nucl. Med. 1965. Vol. 6. pp. 605-610.
30. Bruner H. D., Hayes R. L. and Perkinson J. D. A study of gallium-72-X. Preliminary data on gallium-67. // Radiology. 1953. Vol. 61. pp. 602-603.
31. Schaer L.R., Anger H.O., Gottschalk A. Gallium Edetate  $^{68}\text{Ga}$  Experiences in Brain-Lesion Detection With the Positron Camera // JAMA. 1966. Vol. 198. No. 8. pp. 811-813.
32. Ter-Pogossian M. M., Raichle M. E., Sobel B. E. Positron emission tomography // Sci. Am. 1980. Vol. 243. pp. 170-181.
33. Bernstein L.R. Mechanisms of Therapeutic Activity for Gallium // Pharmacological Reviews. 1998. Vol. 50. No. 4. pp. 665-682.
34. Baes C.F. Jr and Mesmer R.E. The Hydrolysis of Cations. New York: Wiley, 1976.
35. Wood S.A. and Samson I.M. The aqueous geochemistry of gallium, germanium, indium and scandium // Ore Geology Reviews. 2006. Vol. 28. pp. 57-102.
36. Wesley R. Harris , Vincent L. Pecoraro. Thermodynamic binding constants for gallium transferrin // Biochemistry. 1983. Vol. 22. No. 2. pp. 292-299.
37. Brahim Hacht. Gallium(III) Ion Hydrolysis under Physiological Conditions // Bull. Korean Chem. Soc. 2008. Vol. 29. No. 2. pp. 372-376.
38. Brittenham G.M. Disorders of iron metabolism: iron deficiency and overload // In: Hematology, Basic Principles and Practice / Ed. by Hoffman R., Benz E.J. Jr. et al. New York: Churchill Livingstone, 1991. pp. 327-349.

39. Kubal G., Mason A.B., Patel S.U., Sadler P.J. and Woodworth R.C. Oxalate and Ga<sup>3+</sup>-induced structural changes in human serum transferrin and its recombinant N-lobe: <sup>1</sup>H NMR detection of preferential C-lobe Ga<sup>3+</sup> binding // *Biochemistry*. 1993. Vol. 32. pp. 3387-3395.
40. Weiner R.E. The mechanism of <sup>67</sup>Ga localization in malignant disease // *Nucl. Med. Biol.* 1996. Vol. 23. pp. 745-751.
41. Collery P., Keppler B., Madoulet C., Desoize B. Gallium in cancer treatment // *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2002. Vol. 42. pp. 283-296.
42. Liu S. Bifunctional coupling agents for radiolabeling of biomolecules and target-specific delivery of metallic radionuclides // *Adv. Drug Delivery Rev.* 2008. Vol. 60. pp. 1347-1370.
43. Anderson C.J. Welch M.J. Radiometal-Labeled Agents (Non-Technetium) for Diagnostic Imaging // *Chem. Rev.* 1999. Vol. 99. No. 9. pp. 2219-2234.
44. Courbon F., Galian M.E., Tafani J.A.M. Peptides radiomarqués // In: *Radiopharmaceutiques* / Ed. by Michel Comet M.V. Grenoble: Press Universitaires de Grenoble, 1998.
45. Raymond M. Reilly. The Radiochemistry of Monoclonal Antibodies and Peptides // In: *Monoclonal Antibodies and Peptide-Target Radiotherapy of Cancer* / Ed. by Reilly R.M. 2010: John Wiley & Sons, NY.
46. Rösch F. and Patrick J. Riss. The renaissance of the <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga Radionuclide Generator Initiates New Development in <sup>68</sup>Ga Radiofarmaceutical Chemistry // *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 2010. Vol. 10. pp. 1633-1668.
47. Martell A.E., Motekaitis R.J., Clarke E.T. et al. Stability constants of metal complexes of macrocyclic ligands with pendant donor groups // *Supramol. Chem.* 1996. Vol. 6. pp. 353-363.
48. Delgado R., da Silva F. Metal complexes of cyclotetraazatetraacetic acids // *Talanta*. 1982. Vol. 29. pp. 815-822.
49. Zhang Z., Nair S., McMurry T.J. Gadolinium Meets Medicinal Chemistry: MRI Contrast Agent Development // *Current Medicinal Chemistry*. 2005. Vol. 12. No. 7. pp. 751-778.

50. Virgolini I, Traub T, Leimer M. et al. New radiopharmaceuticals for receptor scintigraphy and radionuclide therapy // *Quart. J. Nucl. Med.* 2000. Vol. 44. No. 1. pp. 50-58.
51. Kwekkeboom D.J., Kooij P.P., Bakker W.H., Mäcke H.R., Krenning E.P. Comparison of <sup>111</sup>In-DOTA-Tyr<sup>3</sup>-octreotide and <sup>111</sup>In-DTPA-octreotide in the same patients: biodistribution, kinetics, organ and tumor uptake // *J. Nucl. Med.* 1999. Vol. 40. No. 5. pp. 762-767.
52. G.-J. Meyer, H. Mäcke, J. Schuhmacher et al. <sup>68</sup>Ga-labelled DOTA-derivatised peptide ligands // *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 2004. Vol. 31. pp. 1097–1104.
53. Viola N.A., Rarig R.S.Jr., Ouellette W., Doyle R.P. Synthesis, structure and thermal analysis of the gallium complex of 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-N,N1,N11,N111-tetraacetic acid (DOTA) // *Polyhedron.* 2006. Vol. 25. pp. 3457-3462.
54. Kubicek V., Havlickova J., Kotek J. et al. Gallium(III) Complexes of DOTA and DOTA-Monoamide: Kinetic and Thermodynamic Studies // *Inorg. Chem.* 2010. Vol. 49. pp. 10960-10969.
55. Jean-François Morfin and Éva Tóth. Kinetics of Ga(NOTA) Formation from Weak Ga-Citrate Complexes // *Inorg. Chem.* 2011. Vol. 50. No. 20. pp. 10371-10378.
56. Cabbiness D.K., Margerum D.W. Effect of macrocyclic structures on the rate of formation and dissociation of copper(II) complexes // *J. Am. Chem. Soc.* 1970. Vol. 92. No. 7. pp. 2151-2153.
57. Andre J.P., Maecke H.R. et al. 1,4,7-Triazacyclononane-1-succinic acid-4,7-diacetic acid (NODASA): a new bifunctional chelator for radio gallium-labelling of biomolecules // *Chem. Commun.* 1998. Vol. 12. P. 1301.
58. Šimeček J., Hermann P., Wester H.-J., Notni J. How is <sup>68</sup>Ga Labeling of Macrocyclic Chelators Influenced by Metal Ion Contaminants in <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga Generator Eluates? // *ChemMedChem.* 2013. Vol. 8. pp. 95-103.
59. Šimeček J., Schulz M., Notni J. et al. Complexation of Metal Ions with TRAP (1,4,7-Triazacyclononane Phosphinic Acid) Ligands and 1,4,7-Triazacyclononane-1,4,7-triacetic Acid: Phosphinate-Containing Ligands as

- Unique Chelators for Trivalent Gallium // *Inorg. Chem.* 2012. Vol. 51. pp. 577-590.
60. Ларенков А.А., Брускин А.Б., Кодина Г.Е. Радионуклиды галлия в ядерной медицине: радиофармацевтические препараты на основе изотопа  $^{68}\text{Ga}$  // *Медицинская радиология и радиационная безопасность.* 2011. Т. 56-73. № 5.
61. Krenning E.P., Bakker W.H., Breeman W.A.P. et al. Localisation of endocrine-related tumors with radioiodinated analogue of somatostatin // *Lancet.* 1989. Vol. 1. pp. 242-244.
62. E.P. Krenning, D.J. Kwekkeboom, W.H. Bakker et al. Somatostatin receptor Scintigraphy with [ $^{111}\text{In}$ -DTPA-D-Phe] $^1$  - and [ $^{123}\text{I}$ -Tyr $^3$ ]-octreotide: the Rotterdam experience with more than 1000 patients // *Eur. J. Nucl. Med.* 1993. Vol. 20. pp. 716-731.
63. Sylvie Froidevaux, Alex N. Eberle. Somatostatin Analogs and Radiopeptides in Cancer Therapy // *Biopolymers.* 2002. Vol. 66. pp. 161-183.
64. Adams S., Baum R., Rink T. et al. Limited value of fluorine-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography for the imaging of neuroendocrine tumors // *Eur. J. Nucl. Med.* 1998. Vol. 25. pp. 79-83.
65. Antunes P., Ginj M., Zhang H. et al. Are radiogallium-labelled DOTA-conjugated somatostatin analogues superior to those labelled with other radiometals // *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 2007. Vol. 34. pp. 982-993.
66. Velikyan I., Beyer G.J., Bergström-Pettermann E. et al. The importance of high specific radioactivity in the performance of  $^{68}\text{Ga}$ -labeled peptide // *Nucl. Med. Biol.* 2008. Vol. 35. pp. 529-536.
67. Greenwood N.N. The chemistry of gallium // *Adv. Inorg. Chem. Radiochem.* 1963. Vol. 5. pp. 91-134.
68. Oehlke E., Le V.S. Lengkeek N. et al.. Influence of metal ions on the  $^{68}\text{Ga}$ -labeling of DOTATATE // *Appl. Radiat. Isot.* 2013. Vol. 82. pp. 232-238.
69. I. Velikyan, G. J. Beyer and B. Långström. Microwave-Supported Preparation of  $^{68}\text{Ga}$  Bioconjugates with High Specific Radioactivity // *Bioconjugate Chem.* 2004. Vol. 15. pp. 554-560.

70. Андронов В.Г., Брускин А.Б., Севастьянова А.С. и др. Сорбционное кондиционирование элюата генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  для медицинского применения // Радиохимия. 2008. Т. 50. № 5. С. 464-469.
71. Kraus K. A. and Nelson F. Anion exchange studies of the fission products // Conference on peaceful uses of atomic energy (USA, NYC). 1956. pp. 113-125.
72. Мархол М. Ионообменники в аналитической химии. Москва: Мир, 1985.
73. Korkisch J. Handbook of Ion Exchange Resins (vol. I-VI). Florida: CRC Press, 1988.
74. Breeman W.A.P., de Jong M., Blois E. Radiolabelling DOTA-peptides with  $^{68}\text{Ga}$  // Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging. 2005. Vol. 33. pp. 478-485.
75. Zhernosekov K.P., Filosofov D.V., Baum R.P., Rösch F., Razbash A. et al. Processing of generator-produced  $^{68}\text{Ga}$  for medical application // J. Nucl. Med. 2007. Vol. 10. pp. 1741-1748.
76. Astia M., De Pietria G., Rösch F. et al. Validation of  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  generator processing by chemical purification for routine clinical application of  $^{68}\text{Ga}$ -DOTATOC // Nucl. Med. Bio. 2008. Vol. 35. pp. 721-724.
77. Ocak M., Antretter M., Knopp R. et al. Full automation of  $^{68}\text{Ga}$  labelling of DOTA-peptides including cation exchange prepurification // Appl. Rad. Iso. 2010. Vol. 68. pp. 297-302.
78. Rauschera A., Baumgartnera P., Lacoeuillec F. et al. Comparaison de deux techniques de pré-purification des éluats de  $^{68}\text{Ga}$  pour le marquage de peptides par automate de synthèse // Médecine Nucléaire. 2014. Vol. 38. No. 3. pp. 160-161.
79. Petrik M. – Rösch F. Impurity in  $^{68}\text{Ga}$ -Peptide Preparation Using Processed Generator Eluate // J. Nucl. Med.: Letters to the Editor. 2010. Vol. 51. No. 3. pp. 495-496.
80. Schultz M.K., Mueller D., Baum R.P. et al. A new automated NaCl-based robust method for routine production of gallium-68 labeled peptides // Appl. Rad. Iso. 2013. Vol. 76. pp. 46-54.
81. McAlister D., Horwitz E. Automated two column generator systems for medical radionuclides // Appl. Rad. Iso. 2009. Vol. 67. pp. 1985-1991.

82. Loktionova N.S., Filosofov D.V., K.P.Zhernosekov, Rösch F. Improved column-based radiochemical processing of the generator produced  $^{68}\text{Ga}$  // *Appl. Rad. Iso.* 2011. Vol. 69. pp. 942–946.
83. Martin R., Jüttler S., Müller M. and Hans-Jürgen Wester. Cationic eluate pretreatment for automated synthesis of  $^{68}\text{Ga}$ ]CPCR4.2 // *Nucl. Med. Biol.* 2014. Vol. 41. pp. 84-89.
84. Eppard E., Wuttke M., Nicodemus P. and Rösch F. Ethanol-Based Post-processing of Generator-Derived  $^{68}\text{Ga}$  Toward Kit-Type Preparation of  $^{68}\text{Ga}$ -Radiopharmaceuticals // *J. Nucl. Med.* 2014. Vol. 55. No. 6. pp. 1023-1028.
85. Фёдорова О.С., Кузнецова О.Ф., Красикова Р.Н. и др. Автоматизация процессов нуклеофильного радиофторирования на примере синтеза  $^{18}\text{F}$ -фтордезоксиглюкозы для позитронной эмиссионной томографии // *Медицинская физика.* 2010. Т. 2. С. 61-72.
86. Boschi S., Lodi F., Malizia C. et al. Automation synthesis modules review // *Appl. Rad. Isot.* 2013. Vol. 76. pp. 38-45.
87. Bauwens M., Chekol R., Vanbilloen H. et al. Optimal buffer choice of the radiosynthesis of  $^{68}\text{Ga}$ -Dotatoc for clinical application // *Nucl. Med. Commun.* 2010. Vol. 31. pp. 753-758.
88. M. M. Purification of ion exchangers // In: *Ion Exchangers in Analytical chemistry: Their Properties and Use in Inorganic Chemistry* / Ed. by M. M. Prague: Academia, 1982. pp. 74-76.
89. Ovchinnikov M.V. BAB, KGEea, "Octapeptide for the radiopharmaceuticals synthesis and radiopharmaceuticals based on it," RU2457215, Apr 07, 2011.
90. M M. Determination of the equilibrium distribution coefficient // In: *ION EXCHANGERS IN ANALYTICAL CHEMISTRY. THEIR PROPERTIES AND USE IN INORGANIC CHEMISTRY.* Prague: Academia, 1982. pp. 96-97.
91. Chernyshov A.A., Veligzhanin A.A., Zubavichus Y.V. "Structural Materials Science" endstation at the Kurchatov synchrotron radiation source: recent instrumentation upgrades and experimental results // *Nucl. Instr. Meth. Phys. Res.* 2009. Vol. 603. P. 65.

92. Трофимова Н.Н., Велигжанин А.А., Мурзин В.Ю., Чернышов А.А., Храмов Е.В. и др. Структурная диагностика функциональных наноматериалов с использованием рентгеновского синхротронного излучения // Росс. нанотехн. 2013. Vol. 8. P. 108.
93. Ravel B., Newville M. ATHENA, ARTEMIS, HEPHAESTUS: data analysis for X-ray absorption spectroscopy using IFEFFIT // J. Synchrotron Rad. 2005. Vol. 12. No. 4. pp. 537-541.
94. Zabinsky S.I., Rehr J.J., Ankudinov A., Albers R.C., Eller M.J. Multiple Scattering Calculations of X-ray Absorption Spectra // Phys. Rev. 1995. Vol. 52. P. 2995.
95. Joly Y. X-ray absorption near edge structure calculations beyond the muffin-tin approximation // Phys. Rev. 2011. Vol. 63. pp. 120-125.
96. Granovsky A.A. Firefly version 8.0 // Химический факультет МГУ им. Ломоносова. URL: <http://classic.chem.msu.su/gran/firefly/index.html>
97. Kraus K., Michelson D. and Frederick Nelson F. Adsorption of Negatively Charged Complexes by Cation Exchangers // J. Am. Chem. Soc. 1959. Vol. 81. No. 13. pp. 3204-3207.
98. Nelson F., Murase T., Kraus K. Ion exchange procedures: I. Cation exchange in concentration HCl and HClO<sub>4</sub> solutions // J. of Chromatography A. 1964. Vol. 13. pp. 503-535.
99. Korkisch J. and Ahluwalia S. Cation-exchange behaviour of several elements in hydrochloric acid – organic solvent media // Talanta. 1967. Vol. 14. pp. 155-170.
100. Strelow F.W.E., Victor A.H., van Zyl C.R. and Eloff C.. Distribution Coefficients and Cation Exchange Behavior of Elements in Hydrochloric Acid-Acetone // Anal. Chem. 1971. Vol. 43. No. 7. pp. 870-876.
101. Strelow F.W.E., Van Zyl C.R. and Bothma C.J.C.. Distribution coefficients and the cation-exchange behaviour of elements in hydrochloric acid – ethanol mixtures // Anal. Chim. Acta. 1969. Vol. 45. pp. 81-92.
102. Van der Walt T.N. and Strelow F.W.E. Quantitative Separation of Gallium from Other Elements by Cation-Exchange Chromatography // Anal. Chem. 1983. Vol. 55. No. 2. pp. 212-216.

103. Marcus Y. and Naveh J. Anion exchange of metal complexes. XVII. Selective swelling of the exchanger in mixed aqueous-organic solvents // J. Phys. Chem. 1969. Vol. 73. No. 3. pp. 591-596.
104. // DDBST GmbH: Prediction of Activity Coefficients (Calculation by the UNIFAC Model): [сайт]. [2014]. URL: <http://ddbonline.ddbst.de/UNIFACCalculation/UNIFACCalculationCGI.exe>
105. Wittig R., Lohmann J., Gmehling J. Vapor-Liquid Equilibria by UNIFAC Group Contribution. 6. Revision and Extension // Ind.Eng.Chem.Res. 2003. Vol. 42. No. 1. pp. 183-188.
106. Dobud P., Lee H.M. and Tuck D.G. Anion-Exchange Studies of Halo Complexes of Indium and Some Related Elements in Mixed Water-Alcohol Solutions // Inorg. Chem. 1970. Vol. 9. No. 9. pp. 1990-1997.
107. Kim J.I., Born H.-J. and Lagally H. Ion Exchange in Aqueous-Organic Solvents - III: The Swelling Behaviours of the Anion Exchanger in Mixed Aqueous-Organic Solvents // J. Inorg. Nucl. Chem. 1975. Vol. 37. No. 5. pp. 1259-1268.
108. Marcus Y. and Kertes A.S. Ion Exchange and Solvent Extraction of Metal Complexes. New York: Wiley, 1969.
109. Ch. Wohlfarth. Static Dielectric Constants of Pure Liquids and Binary Liquid Mixtures // In: Landolt-Börnstein: Numerical Data and Functional Relationships in Science and Technology. Springer, 2008.
110. Wallwork S.C., Worrall I.J. The Crystal Structure of Gallium Trichloride // J. Chem. Soc. 1965. pp. 1816-1820.
111. Lindqvist-Reis P., Muñoz-Páez A., Díaz-Moreno, S., Pattanaik S., Persson I., Sandström. The Structure of the Hydrated Gallium(III), Indium(III), and Chromium(III) Ions in Aqueous Solution. A Large Angle X-ray Scattering and EXAFS Study // Inorg. Chem. 1998. Vol. 37. No. 26. pp. 6675-6683.
112. Taylor M.J. Spectroscopic studies of gallium complexes in solution // Polyhedron. 1990. Vol. 9. pp. 207-214.
113. Fratiello A., Lee R.E., Schuster R.E. Hydrogen-1 and Gallium-69 Nuclear Magnetic Resonance Cation Hydration Study of Gallium Halide Solutions in Water-Acetone Mixtures // Inorg. Chem. 1970. Vol. 9. pp. 82-85.



114. van Gaans P.F.M. Thermodynamics of aqueous gallium chloride: Activity coefficients in dilute and high chloride solutions with consideration of the effects of hydrolysis and chloride complex formation // Chem. Geo. 1993. Vol. 104. pp. 139-157.
115. Mann C.K. , Swanson C.L. Cation Exchange Elution of Metallic Chlorides by Hydrochloric Acid // Anal. Chem. 1961. Vol. 33. No. 3. pp. 459-462.
116. Marcus Y., Maydan D. ANION EXCHANGE OF METAL COMPLEXES. IX. THE EFFECT OF CROSSLINKING // J. Phys. Chem. 1963. Vol. 67. No. 5. pp. 983-986.
117. Ларенков А.А. и др., "Способ получения растворов  $^{68}\text{Ga}$  высокой чистоты," Изобретение RU 2 464 043 C1, сентябрь 26, 2011.
118. Ларенков А.А. и др., "Способ получения активной фармацевтической субстанции для синтеза препаратов галлия-68," Изобретение RU 2 522 892 C1, январь 09, 2013.

## Приложение А

**Коэффициенты распределения  $^{68}\text{Ga}$  на ионообменных смолах в смешанных средах соляная кислота – органический растворитель (ацетон, этанол)**

Таблица 1 – Коэффициенты распределения  $^{68}\text{Ga}$  на катионите Dowex AG 50W×8 (H<sup>+</sup>)  $D_g^{cat}$  при различных значениях концентрации соляной кислоты и объёмного содержания ацетона

С <sub>нс</sub> , моль/л	об. % ацетона									
	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90
0,1	19390	21772	23576	26086	28567	31781	39759	18364	1628	6,94
0,2	14820	14990	15920	17682	21399	27394	38040	17639	172	5,31
0,3	5027	5322	6547	8319	10235	12508	15693	3819	19,7	3,48
0,4	1930	2239	2813	3706	5430	7258	8166	494	14,51	2,81
0,5	863	895	1093	1572	2357	3266	2291	111	16,63	1,93
0,6	494	508	644	875	1169	1447	1446	69,07	12,14	1,78
0,7	305	324	397	565	798	1085	494	11,36	10,59	1,47
0,8	189	199	248	329	480	669	308	6,59	4,52	1,32
0,9	114	131	159	218	314	391	98,8	5,02	3,62	1,2
1,0	85,83	99,04	129	172	239	275	47,09	3,8	3,31	1,1
1,1	68,99	73,96	95,48	130	179	186	20,65	3,67	3,21	0,9
1,2	43,37	51,68	63,75	89,18	117	113	18,1	3,53	2,8	0,7
1,3	42,62	47,81	62,73	87,97	118	117	15,58	3,31	2,5	-
1,4	31,59	32,77	38,82	54,89	103	54,27	6,34	3,12	2,2	-
1,5	29,84	30,15	36,93	51,88	57,71	25,61	5,98	2,62	1,7	-
1,6	19,22	20,63	24,28	30,71	41,83	24,34	4,31	2,45	1,5	-
1,7	15,01	17,04	21,31	27,04	32,45	14,52	4,1	2,3	1,1	-
1,8	14,09	14,72	18,08	22,42	25,56	13,71	3,8	2,1	0,8	-
1,9	13,81	14,48	16,75	21,18	23,68	10,19	3,1	1,8	0,6	-
2,0	12,68	13,07	14,83	19,51	11,23	5,53	2,5	1,2	0,4	-
2,5	4,74	5,31	6,79	10,40	4,58	2,05	1,8	1,1	-	-
3,0	4,31	4,73	6,12	5,06	3,21	2,02	1,6	0,9	-	-

Таблица 2 – Коэффициенты распределения  $^{68}\text{Ga}$  на анионите Dowex AG 1×8 (Cl<sup>-</sup>)  $D_g^{an}$  при различных значениях концентрации соляной кислоты и объёмного содержания ацетона

С <sub>нс</sub> , моль/л	об. % ацетона									
	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90
0,1	0,1	0,1	0,4	0,5	0,7	1,6	3,8	14,4	6,8	4,3
0,5	0,1	0,3	0,7	1,1	1,3	7,1	19,2	7,5	3,2	2,3
1,0	1,4	1,5	2,1	4,2	9,3	33,1	32,4	16,6	9,2	7,2
1,5	2,3	2,5	2,7	7,2	29,9	67,4	20,3	4,2	1,7	-
2,0	3,3	6,6	10,6	32,5	146,9	68,9	14,4	4,3	3,5	-
2,5	17,7	33	68,7	125,8	268,4	75,1	14,0	4,1	-	-
3,0	32,6	56,4	153,6	585,4	333,3	75,9	14,5	4,1	-	-

Таблица 3 – Коэффициенты распределения  $^{68}\text{Ga}$  на катионите Dowex AG 50W×8 (H<sup>+</sup>)  $D_g^{cat}$  при различных значениях концентрации соляной кислоты и объёмного содержания этанола

С <sub>нс</sub> , моль/л	об. % этанола									
	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90
<b>0,1</b>	19393	22619	24949	25363	28188	36811	38146	40513	41785	10091
<b>0,2</b>	14830	17349	18299	24409	26911	34592	37355	39458	40720	251
<b>0,5</b>	867	1062	1286	1716	2601	4122	6214	8593	5821	116
<b>0,75</b>	264	299	363	496	753	1109	1694	2399	871	8,1
<b>1,0</b>	85,7	96	110	158	226	327	495	473	55,2	-
<b>1,25</b>	42,94	74,2	86,9	118	187	276	374	246	28,4	-
<b>1,5</b>	29,64	30,3	37,89	39,17	52	67,1	77,2	7,77	2,54	-
<b>1,75</b>	13,1	14,51	16,91	22,36	31,71	42,79	27,48	2,43	1,57	-
<b>2,0</b>	12,5	12,91	13,73	14,33	18,97	24,86	8,85	1,8	-	-
<b>2,25</b>	7,15	7,12	8,37	10,59	13,79	12,75	3,28	1,7	-	-
<b>2,5</b>	4,6	5,5	7,5	9,13	12,9	6,47	1,13	0,65	-	-
<b>2,75</b>	4,4	4,7	6,3	7,71	8,63	3,04	0,82	0,29	-	-
<b>3,0</b>	4,27	4,4	5,7	6,9	7,4	2,69	0,6	0,1	-	-

Таблица 4 – Коэффициенты распределения  $^{68}\text{Ga}$  на анионите Dowex 1×8 (Cl<sup>-</sup>)  $D_g^{an}$  при различных значениях концентрации соляной кислоты и объёмного содержания этанола

С <sub>нс</sub> , моль/л	об. % этанола									
	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90
<b>0,1</b>	0,1	0,1	0,2	0,5	0,8	1,8	8,1	18	601	1637
<b>0,2</b>	0,2	0,2	0,3	0,6	1,2	2,4	17,72	41,6	569	1099
<b>0,5</b>	0,3	0,22	0,36	0,76	2,3	5,19	19,86	60,1	448	507
<b>0,75</b>	0,6	1,02	1,17	1,33	3,05	7,45	22,58	109	415	379
<b>1,0</b>	1,37	1,48	1,75	2,1	5,21	14,13	55,1	290	386	-
<b>1,25</b>	1,15	1,5	2,01	2,29	7,65	19,47	65,1	283	320	-
<b>1,5</b>	1,18	1,92	3,07	7,03	26,11	97,4	404	357	203	-
<b>1,75</b>	1,39	2,8	5,06	13,86	48,8	220	503	293	140	-
<b>2,0</b>	3,35	4,27	9,16	25,67	96,6	371	560	264	-	-
<b>2,25</b>	14,69	18,06	19,52	54,9	217	863	523	210	-	-
<b>2,5</b>	17,96	19,49	29,18	86,2	372	926	550	182	-	-
<b>2,75</b>	28,1	35,8	49,8	232	883	1087	435	122	-	-
<b>3,0</b>	32,5	63,94	125	489	1358	1088	360	119	-	-

## Приложение Б

# РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



## ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2464043

### СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ РАСТВОРОВ $^{68}\text{Ga}$ ВЫСОКОЙ ЧИСТОТЫ

Патентообладатель(ли): *Федеральное государственное бюджетное учреждение "Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна" (RU), Федеральное государственное унитарное предприятие "Федеральный центр по проектированию и развитию объектов ядерной медицины" Федерального медико-биологического агентства (RU)*

Автор(ы): *см. на обороте*

Заявка № 2011139133

Приоритет изобретения **26 сентября 2011 г.**

Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Российской Федерации **20 октября 2012 г.**

Срок действия патента истекает **26 сентября 2031 г.**

Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности

Б.П. Симонов



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



(19) **RU** (11) **2 464 043** (13) **C1**

(51) МПК  
A61K 51/00 (2006.01)  
A61K 103/00 (2006.01)  
B01D 15/42 (2006.01)  
G01N 30/02 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2011139133/15, 26.09.2011  
(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
26.09.2011  
Приоритет(ы):  
(22) Дата подачи заявки: 26.09.2011  
(45) Опубликовано: 20.10.2012 Бюл. № 29  
(56) Список документов, цитированных в отчете о  
поиске: DANIEL R. MCALISTER «Automated two  
column generator systems for medical  
radionuclides» Applied Radiation and Isotopes.  
Volume 67, Issue 11, November 2009, p.1985-  
1991. RU 2343965 C2, 20.01.2009. US  
20080277350 A1, 13.11.2008. MEYER G.-J. <sup>68</sup>Ga-  
labelled DOTA-derivatised peptide ligands.  
European Journal of Nuclear Medicine and (см.  
прод.)

Адрес для переписки:  
123182, Москва, ул. Живописная, 46, ФГБУ  
ФМБЦ им. А.И. Бурназяна, генеральному  
директору К.В. Котенко

(72) Автор(ы):  
Ларенков Антон Алексеевич (RU),  
Брускин Александр Борисович (RU),  
Кодина Галина Евгеньевна (RU)  
(73) Патентообладатель(и):  
Федеральное государственное бюджетное  
учреждение "Федеральный медицинский  
биофизический центр имени А.И.  
Бурназяна" (RU),  
Федеральное государственное унитарное  
предприятие "Федеральный центр по  
проектированию и развитию объектов  
ядерной медицины" Федерального медико-  
биологического агентства (RU)

RU 2 4 6 4 0 4 3 C 1

RU 2 4 6 4 0 4 3 C 1

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ РАСТВОРОВ <sup>68</sup>Ga ВЫСОКОЙ ЧИСТОТЫ

(57) Реферат:  
Изобретение относится к медицине, в  
частности к способу получения растворов <sup>68</sup>Ga,  
который включает следующие стадии:  
взаимодействие элюата генератора <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga с  
катионообменной смолой, промывку  
катионообменной смолы смесью 0,2-1 М  
соляной кислоты и 20-80% об. ацетона,  
элюирование <sup>68</sup>Ga с катионообменной смолы  
смесью 1,8-2,5 М соляной кислоты и 20-80% об.  
ацетона, взаимодействие полученного элюата с  
анионообменной смолой, промывку  
анионообменной смолы органическим  
растворителем, осушение анионообменной

смолы воздухом или инертным газом и  
элюирование <sup>68</sup>Ga с анионообменной смолы  
водным раствором 0,01-0,1 М соляной  
кислоты, где его объем в 15-25 раз меньше  
объема исходного элюата генератора  
<sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga. Заявленный способ позволяет  
получать концентрированные растворы  
радионуклида <sup>68</sup>Ga высокой химической и  
радиохимической чистоты, не содержащие  
органических растворителей, что обеспечивает  
возможность получения радиофармпрепаратов  
<sup>68</sup>Ga с высокой молярной активностью и  
радиохимической чистотой. 1 з.п. ф-лы, 3 табл.  
2 ил., 4 пр.

(56) (продолжение):  
Molecular Imaging, v.31, №8, August 2004, p.1097-1104. VELIKYAN I. Microwave-supported preparation of  
(68)Ga bioconjugates with high specific radioactivity. Bioconjugate Chem. 2004, 15, p.554-560. US 7728310 B2,



Приложение В

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2522892

**СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ АКТИВНОЙ  
ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ СУБСТАНЦИИ ДЛЯ СИНТЕЗА  
ПРЕПАРАТОВ ГАЛЛИЯ-68**

Патентообладатель(ли): *Российская Федерация, от имени которой  
выступает Государственная корпорация по атомной энергии  
"Росатом" (RU)*

Автор(ы): *см. на обороте*

Заявка № 2013100361

Приоритет изобретения 09 января 2013 г.

Зарегистрировано в Государственном реестре  
изобретений Российской Федерации 21 мая 2014 г.

Срок действия патента истекает 09 января 2033 г.

Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности

Б.П. Симонов

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



(19) **RU** <sup>(11)</sup> **2 522 892** <sup>(13)</sup> **C1**

(51) МПК  
*A61K 51/00* (2006.01)  
*A61K 103/00* (2006.01)  
*B01D 15/42* (2006.01)  
*G01N 30/02* (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ**

(21)(22) Заявка: 2013100361/15, 09.01.2013

(24) Дата начала отсчета срока действия патента: 09.01.2013

Приоритет(ы):  
(22) Дата подачи заявки: 09.01.2013

(45) Опубликовано: 20.07.2014 Бюл. № 20

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: WO 2011/106846 A1 09.09.2011. US 2008/0277350 A1 13.11.2008. DANIEL R. MCALISTER «Automated two column generator systems for medical radionuclides» Applied Radiation and Isotopes. Volume 67, Issue 11, November 2009, Pages 1985–1991. RU 2343965 C2 20.01.2009

Адрес для переписки:  
123182, Москва, ул. Живописная, 46, ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России

(72) Автор(ы):  
Ларенков Антон Алексеевич (RU),  
Брускин Александр Борисович (RU),  
Кодина Галина Евгеньевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):  
Российская Федерация, от имени которой выступает Государственная корпорация по атомной энергии "Росатом" (RU)

**RU 2 522 892 C 1**

**RU 2 522 892 C 1**

**(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ АКТИВНОЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ СУБСТАНЦИИ ДЛЯ СИНТЕЗА ПРЕПАРАТОВ ГАЛЛИЯ-68**

(57) Реферат:  
Изобретение относится к способу получения активной фармацевтической субстанции для синтеза препаратов галлия-68, применяемых в позитронно-эмиссионной томографии. Способ включает следующие стадии: взаимодействие элюата генератора <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga с катионообменной смолой, промывку катионообменной смолы смесью соляной кислоты и этанола, элюирование <sup>68</sup>Ga с катионообменной смолы смесью соляной

кислоты и этанола, взаимодействие полученного элюата с анионообменной смолой, промывку анионообменной смолы этиловым спиртом, осушение анионообменной смолы воздухом или инертным газом и элюирование <sup>68</sup>Ga с анионообменной смолы водным раствором соляной кислоты. Изобретение обеспечивает увеличение выхода процесса на 10%. 2 табл., 2 ил., 3 пр.



## Приложение Г

МУК 4.3. 012 – 2012

**УТВЕРЖДАЮ**  
Заместитель Руководителя Федерального  
Медико-биологического агентства,  
Главный государственный санитарный врач  
по обслуживаемым организациям и  
обслуживаемым территориям  
**В.В. Романов**  
«   »     20 12 г.



Дата введения – с момента утверждения

### 4.3. Физические факторы

#### **Методика измерений радиохимической чистоты радиофармацевтических препаратов на основе $^{68}\text{Ga}$**

Методические указания по методам контроля.

The measurement procedure for assessment of radiochemical purity  
of  $^{68}\text{Ga}$ 's radiopharmaceuticals.

МУК 4.3.012 - 2012 г

### **1. Область применения**

1.1. Настоящие методические указания по методам контроля распространяются на методики измерений радиохимической чистоты радиофармацевтических препаратов на основе  $^{68}\text{Ga}$ .

1.2. Настоящий документ устанавливает методику измерений радиохимической чистоты радиофармпрепаратов на основе  $^{68}\text{Ga}$ : элюат генератора  $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ ,  $^{68}\text{Ga}$ -октреотида.

1.3. Методика обеспечивает выполнение измерений радиохимической чистоты препаратов в диапазоне (90 - 100)% с погрешностью, которая определяется рассеянием результатов измерений нескольких параллельных анализов.

1.4. Методические указания по методам контроля предназначены для предприятий и учреждений ФМБА России, проводящих измерения радиохимической чистоты радиофармпрепаратов.

МИНИСТЕРСТВО  
ПРОМЫШЛЕННОСТИ И ТОРГОВЛИ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ  
И МЕТРОЛОГИИ



Федеральное государственное унитарное предприятие  
«Всероссийский научно-исследовательский институт  
физико-технических и радиотехнических измерений»



«ЦЕНТР МЕТРОЛОГИИ ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ»

141570, п.о. Менделеево  
Солнечногорского р-на, Московской обл.

Тел.-факс: (095) 535-9305  
E-mail: yarina@vniiftri.ru

**Свидетельство**

**об аттестации методики радиационного контроля**

**№ 40090.0П058**

Методика измерений радиохимической чистоты радиофармацевтических препаратов на основе Ga-68, разработанная специалистами «ФМБЦ им. А. И. Бурназяна» и изложенная в одноименном документе, аттестована в соответствии с требованиями ГОСТ Р 8.594.

Методика основана на анализе препарата Ga-68 методом восходящей хроматографии с выделением участков хроматограммы, содержащих исследуемый комплекс и возможные примеси, и последующих относительных радиометрических измерениях активности выделенных участков.

Методика регламентирует пробоотбор препарата, процедуры получения хроматограмм, измерения активности, обработки и оформления результатов анализа. При заданной статистике радиометрических измерений погрешность радиохимической чистоты препарата определяется рассеянием результатов нескольких параллельных анализов и оценивается по результатам измерений.

Аттестация методики выполнена по результатам метрологической экспертизы материалов по ее разработке.

Дата аттестации: 03 декабря 2010г.

Руководитель ЦМИИ (НИО-4)



В. П. Ярына